

**Experimentelle Untersuchungen
über die Möglichkeit einer Abtötung
von Milzbrandbazillen und -sporen
im Abwasser**

I. Willand

1962

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Em. Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT
EINER ABTÖTUNG VON MILZBRANDBAZILLEN UND -SPOREN
IM ABWASSER

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz



vorgelegt von

I. WILLAND
aus Mannheim

Mainz 1962

Dekan: Prof. Dr. Dr. K. Lang

Referent: Prof. Dr. Dr. G. Gillissen

Korreferent: Prof. Dr. H. Klieve

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 2. 1962





Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung und Ziel der Arbeit

Die in Deutschland vorkommenden Erkrankungen an Milzbrand können fast ausnahmslos zurückgeführt werden auf den Import milzbrandverseuchter Felle und Häute. Da wirksame Desinfektionsmassnahmen das Importgut nicht nur in seiner Qualität herabsetzen, sondern praktisch auch unbrauchbar machen würden, ist aus epidemiologischen Gründen zumindest zu fordern, dass Abwässer von leder- und häuteverarbeitenden Industriezweigen frei sind von Milzbrandbazillen bzw. -sporen. Solche Möglichkeiten bestehen. Sie sind aber sehr kostspielig; denn es kommen praktisch nur grosse Absatzbecken oder verschiedene grössere Abwasseraufbereitungsanlagen in Frage.

Zweck der nachfolgend beschriebenen Untersuchung war es deswegen, auf breiter Basis verschiedene Möglichkeiten zu prüfen, ob Milzbrandbazillen bzw. -sporen in wässriger Suspension abgetötet werden können. Im einzelnen wurde untersucht: Der Einfluss von Oxydationsmitteln, von kapillaraktiven Substanzen, von Wechselströmen verschiedener Stärke in Verbindung mit antagonistischen Phänomenen sowie die kombinierte Anwendung dieser verschiedenen Verfahren.

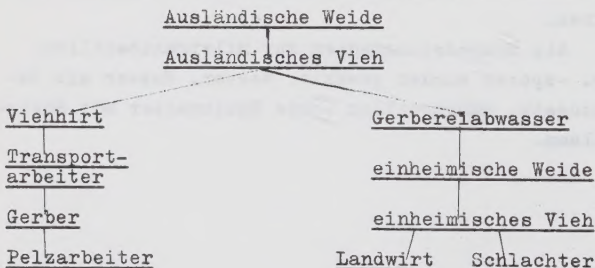
Als Suspensionsmedien für Milzbrandbazillen bzw. -sporen wurden gewählt: Wasser, Wasser mit Serumzusatz, Nährbouillon sowie Rheinwasser mit Rheinschlamm.

2. Die hygienische Bedeutung einer Abtötung
von Milzbrandbazillen und -sporen in Ab-
wässern

Infektionen mit Milzbrandbazillen sind in Deutschland fast ausschliesslich als Berufskrankheit bekannt. Deswegen findet man Erkrankungen besonders bei Transportarbeitern, soweit sie mit dem Transport von Fellen und Häuten zu tun haben, sowie bei Arbeitern in Gerbereien und in sonstigen häuten- und borstenverarbeitenden Industriezweigen. Die Epidemiologie (Infektionsquelle, Infektionsweg und Eintrittspforte des Krankheitserregers in den menschlichen Organismus) kann an Hand eines Schemas von G r a f (Abb. 1) verdeutlicht werden.

Abb. 1

Schema zur Epidemiologie der Milzbrandinfektion
in Deutschland



Nach dieser Aufstellung wird angenommen, dass als eigentliche Infektionsquelle ausländisches Vieh bzw. ausländische Weiden in Frage kommen. Diese Annahme hat insofern eine Berechtigung, als Milzbrand während des Abschlusses Deutschlands vom Aussenhandel hier praktisch nicht vorkam. (S e e l e). Diese Aussage braucht sicher auch nicht dadurch korrigiert zu werden, dass diese Statistik auf einer Rundfrage bei den Berufsgenossenschaften beruht und eine systematische Erfassung in den letzten Kriegs- und ersten Nachkriegsjahren nicht möglich war.

Die aussergewerblichen Milzbranderkrankungen stellen nur etwa 5 - 10% der durchschnittlichen jährlichen Erkrankungszahl dar. Bei der aussergewerblichen Milzbrandinfektion des Menschen durch Abwasser der entsprechenden Industriezweige handelt es sich definitionsgemäss nur um eine Direktinfektion durch diese Abwässer, also nicht um Erkrankungen von Personen, die sich an kranken Tieren, die von einer sogenannten Milzbrandweide stammen, infiziert haben.

Die beste seuchenhygienische Massnahme wäre die Desinfektion des verseuchten Importgutes. Eine Desinfektion im exportierenden Land oder unmittelbar nach der Ankunft in Deutschland scheitert aber u.a. an der Kostenfrage (H a i l e r , H e i c k e n).

Untersuchungen über die Haltbarkeit von Milzbrandsporen auf Häuten, die Körperumhüllung von Grosstieren, und auf Fellen, die Körperumhüllung von Kleintieren, ergaben, dass durch die für den Transport erforderliche Konservierung mittels Salzen oder Trocknen die Lebensfähigkeit und Infektionsfähigkeit nicht beeinträchtigt werden. Während Haare und Borsten durch Erhitzen desinfiziert wer-

den können, ist dies bei Häuten und Fellen nicht möglich, da hierdurch die Verwendungsmöglichkeit beeinträchtigt wird. Temperaturen von 62 - 64°C sind schon ausreichend, das Material zu "verleimen". Alle bis jetzt genau untersuchten chemischen Verfahren erwiesen sich aus irgend einem Grunde ungeeignet (H a u s a m , H a i l e r , H e i c k e n).

Zur Behandlung von milzbrandverdächtigem Abwasser sind grundsätzlich verschiedene Möglichkeiten zu erwägen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Abwässer eine recht unterschiedliche Zusammensetzung haben können. Falls dem Wasser nicht schon vorher ein Desinfektionsmittel zugesetzt worden war, fordert H a u s a m zur Abtötung von Milzbrandsporen eine Erwärmung des Wassers auf 100°C für die Dauer von mindestens 2 Stunden. Die Verwendung von Chlorkalk wird als unwirtschaftlich bezeichnet und kann für den Vorfluter gegebenenfalls eine erhebliche Belastung bedeuten. Auch Chlor wird unwirtschaftlich, wenn die Verschmutzung des Wassers zu gross ist. Bei der Verwendung von Chloramin, das besser als Chlor wirkt, dürften wegen der starken Belastung Schwierigkeiten auftreten (H e i c k e n). Auch Formaldehyd bietet wohl keine genügende Sicherheit (H a u s a m).

Neben diesen chemischen Verfahren ist die Ableitung der Abwässer in Vorklärbecken zu nennen. Darin sinken die groben Bestandteile ab, und das Wasser wird dann nach Weiterführen in ein Belüftungsbecken durch Agitation mit Luftsauerstoff versetzt. Dadurch oxydiert der kolloidalgelöste Schwefel, und es kommt zur Ausfällung von kleinen Flocken, die im Nachklärbecken sedimentieren und dabei vorhandene Bakterien mitreissen. Auf diese Weise ist das Wasser gereinigt, aber nicht entseucht. Der Schlamm als

Rücklaufschlamm erneut der Anlage zugeführt, wird durch Sauerstoff aktiviert (Belebt-Schlamm). Für häusliche Abwässer ist dieses Verfahren günstig, bei Industrieabwässern kann es wegen der möglicherweise vorhandenen Bakteriengifte weniger verwandt werden. Deswegen wird eine Vermengung der industriellen Abwässer mit häuslichen Abwässern im Verhältnis 20 : 80 empfohlen, was in der Praxis nur schwer erreicht werden dürfte. Nicht zu vergessen ist, dass eine solche Anlage sehr kostspielig wäre.

Eine weitere Möglichkeit ist die Zwischenschaltung von Klärbecken zwischen Fabrik und Vorfluter, worin das alkalische aber noch voll fähige Abwasser bis zu 14 Tagen verweilt. Das Wasser ist dann weitgehend frei von Milzbrandkeimen, aber nicht entseucht.

Besondere Schwierigkeiten ergeben sich noch bei der Schlammabeseitigung. Wegen der grossen Infektionsgefahr ist auf jeden Fall eine landwirtschaftliche Nutzung zu untersagen. Milzbrandsporen sollen in einem Absetzschlamm, der mit Ätzkalk und Tabakstaub versetzt und mit Torf bedeckt kompostiert wird, abgetötet werden, da dabei Höchsttemperaturen nach 20 Tagen von 65 - 67°C auftreten sollen. Der ATV-Arbeitsausschuss empfiehlt eine Entwässerung des Schlammes auf Saugzellenfiltern mit nachfolgender Verbrennung oder eine Kompostierung mit Ätzkalk. Diese kurze Übersicht besagt, dass die Behandlung milzbrandverseuchter Abwässer noch keinesfalls zufriedenstellend geklärt ist.

3. Der Einfluss von elektrischen Strömen auf die Zellkonzentration einer Bakte- riensuspension (Übersicht)

Unter den vielen Versuchen, Mikroorganismen in wässrigen Suspensionen abzutöten, gibt es auch verschiedene Arbeiten, bei denen elektrische Ströme benutzt wurden (K ü h n e). Die ersten Versuche über einen Einfluss elektrischer Ströme auf Mikroorganismen gehen auf die Mitte des letzten Jahrhunderts zurück (A p o s t o l i et L a - q u e r r i è r e). Dabei versuchte man auch, Elektrolyseeffekte als mögliche Ursache des Versuchsergebnisses auszuschliessen (H e l l e r , S c h i e l , T h i e l e).

Häufig wurde zwar festgestellt, dass eine Keimabtötung erzielt wurde, jedoch nicht quantitativ, so dass keine Sterilität möglich war. Unter Verwendung von Gleichstrom ist der antibakterielle Effekt auf die Joule'sche Wärme und auf Elektrolyterscheinungen zurückzuführen. Die an den Elektroden sich anreichernden Ionen können vorhandene Mikroorganismen direkt durch Reduktions- und Oxydationsvorgänge oder indirekt durch eine Änderung des Mediums schädigen.

In den meisten Fällen waren hygienische Fragestellungen Anlass zu diesen Untersuchungen, vor allem die Reinigung von Trink- und Gebrauchswasser (B o h d a n o w i c s , F e r m i , K l e i n , O p p e r m a n n , W e b s t e r). So wurde in der letzten Zeit das Problem der elektrolytischen Chlorung wieder aufgegriffen (B r a u s), wobei verschiedene Elektrodensysteme miteinander verglichen wurden. Gegenüber der Gaschlorung sollen die Vorteile dieses Verfahrens in einer feineren Verteilung der Chlorbläschen, in einer geringeren Geruchs-

belästigung und stärkeren Desinfektion bestehen.

Es fehlt auch nicht an Versuchen, durch Behandlung mit elektrischem Strom Milch zu sterilisieren (Beattie , Devereaux , Finkelstein , Gelpi , Guarini , Renard , Robison , Thornton). Dabei wurden gefordert eine längere Haltbarkeit, keine Geschmacksänderung, Erhaltung der Rahmschicht und Vitamine und eine Reduktion der Gesamtkeimzahl mit einer Zerstörung pathogener Keime. In ähnlicher Weise versuchte man Fruchtsäfte u.a. zu konservieren (Tracy).

Im Gegensatz zu diesen Arbeiten stehen Versuche, mit denen gezeigt wurde, dass unter bestimmten Bedingungen elektrische Ströme Stoffwechsel und Wachstum von Bakterien anzuregen vermögen (Kinzell , Kuchler , Kleiber , Schieblich).

Im Gärungsgewerbe wurden Fehlgärungen auf vagabundierende Ströme zurückgeführt, die durch Zusammenschliessen von Aluminiumbehältern und Kupferkühlschlangen zustande gekommen zu sein scheinen (Reuter , Schwarz). Es soll sich hier aber um einen indirekten Stromeffekt, um oligodynamische Wirkungen, handeln (Stockhausen , Emslander , Hallermann , Horsch , Jacob , Schrempf).

Für die in dieser Arbeit diskutierte Fragestellung sind von besonderem Interesse die Versuche einer submersen Anzüchtung von Mikroorganismen durch Freisetzung von Sauerstoff mit Hilfe von Elektrolyse (Sadoff). Es gelang z.B. *Pseudomonas-fluoreszens*-Bakterien in Tiefkulturen zu züchten, indem durch eine Elektrolyse des Nährmediums Sauerstoff freigesetzt wurde. Die erzielten Keimkonzentrationen entsprachen denen, die man auch durch kräftiges Belüften erhielt. Bei Verwendung grosser Elektroden

und einer niederen Spannung traten wachstumshemmende Mengen von Wasserstoffsuperoxyd nicht auf.

Diese Versuche weisen für unsere Fragestellung darauf hin, dass gegebenenfalls durch Beeinflussung einer Keimsuspension mit elektrischen Strömen entweder eine Keimreduktion, eine Wachstumsbeschleunigung und damit eine Sensibilisierung gegenüber antibakteriellen Stoffen in geringen Konzentrationen oder vielleicht eine für Milzbrandbazillen ungünstige Beeinflussung in der antagonistischen Beziehung zu den in Abwässern stets vorhandenen Colibakterien (G i l l i s s e n) erreicht werden können.

Genauere Untersuchungen liegen von K l i e w e und N e i d l vor. Diese Autoren fanden, dass schwache elektrische Ströme weder eine Wachstumshemmung noch eine Abtötung von Mikroorganismen, sondern eine Steigerung der Lebensäusserung verursachen.

Die ersten Versuche wurden mit grobfiltriertem Abwasser durchgeführt unter Verwendung von Kohle (20 mm breit, 12 mm dick) als Elektroden bei einem Elektrodenabstand von 86 mm und einer Eintauchtiefe von etwa 30 mm. Der Strom wurde dem 220 Volt-Lichtnetz (50 Hz) entnommen und ein Schiebewiderstand von 52 Ohm eingelegt. Mit einer Stromstärke von 200 mAmp erfolgte die Behandlung des Abwassers. In den ersten 24 Stunden 12mal für die Dauer von nur 15 Minuten, am 2. Tag im Abstand von einer halben Stunde insgesamt 14mal je 3 Sekunden. Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl pro Volumeneinheit ergab durch die Strombehandlung gegenüber unbehandelten Kontrollen eine Steigerung der Keimkonzentration um das 2 1/2 fache. Eine Temperaturerhöhung in dem behandelten Wasser als Ursache dieses Effektes konnte ausgeschlossen werden. Die weitere Bearbeitung dieser

Fragen ergab, dass die Zunahme der Keimkonzentration in umgekehrter Relation zu der eingesetzten Energie stand.

Eine vergleichende Untersuchung (K l i e w e , N e i d l) über den Einfluss von Wechselstrom gleicher Spannung, Stromstärke und Frequenz auf verschiedene Keimarten ergab ein schnelleres Wachstum von Typhusbakterien im Verhältnis zu Colibakterien. K l i e w e und N e i d l erklärten diesen Unterschied damit, dass Colibakterien wegen ihrer ausgeprägten fermentativen Leistungen das Medium und damit seine Leitfähigkeit verändern. Dieser unterschiedliche Effekt auf Typhus- und Colibakterien war bei Verwendung eines synthetischen Mediums nicht mehr erkennbar. Auch mit Staphylokokken- und Paratyphusbakterien wurden ähnliche Effekte erzielt.

Eigene Versuche

4. Allgemeine Versuchsanordnung

Untersucht wurde der Einfluss von Oxydationsmitteln, kapillaraktiven Substanzen (Oberflächenaktiva), allein oder in Kombination, sowie der Einfluss elektrischer Wechselströme auf die Zellkonzentration von Milzbrandbazillen bzw. -sporen. Für die ersten Versuche zur Einarbeitung in die Technik wurden auch Subtilisbazillen bzw. -sporen benutzt. Ferner kamen Colibakterien zur Anwendung. Da die letztgenannte Keimart ein ausgeprägt antagonistisches Potential besitzt (K l i e w e , G i l l i s s e n , G u n d e l), wurden auch Mischkulturen von Colibakterien und Milzbrandbazillen mit den oben genannten Agentien behandelt. Diese Versuche sind besonders wichtig im Hinblick auf Abwasserverhältnisse.

Bei allen diesen Versuchen handelt es sich um Modellversuche. Proben aus häuslichen oder gewerblichen Abwässern wurden nicht verwandt. Berücksichtigt wurde stets in besonderen Versuchen die Bedeutung einer Anwesenheit von Eiweiss. Deswegen wurde bei den entsprechenden Experimenten Serum den Versuchsmedien zugesetzt.

Als Testmedien dienten : Bouillon (1 : 4 verdünnt mit Aqua dest.), Rheinwasser. Die Medien wurden mit bestimmten Mengen Milzbrandbazillen bzw. -sporen, Subtilisbazillen und E.Coli beschickt, bei bestimmten Umweltemperaturen gehalten und zu den wichtigen Zeitabschnitten auf den Keimgehalt untersucht.

Grundsätzlich wurde die Möglichkeit einer Bakteriostase oder einer Bakterizidie durch entsprechende Versuchsanordnungen berücksichtigt.

Zu den Versuchen mit Milzbrand bzw. Subtilis-sporen wurden stets 8 Tage alte Schrägagarkulturen, die also nachweislich völlig versport waren, mit 6 ml Aqua dest. steril abgeschwemmt und davon 5 ml zur Weiterverarbeitung entnommen. Die Bakteriostasewerte wurden im Reihenverdünnungstest und geometrischen Verdünnungsstufen angesetzt. Die Ansätze wurden 18 Stunden bei 37°C bebrütet und dann nach der makroskopischen Prüfung auf eine in den einzelnen Verdünnungen erfolgte Trübung (= Wachstum) ausgewertet. Zur Kontrolle auf Reinheit des Teststammes wurden stets die drei letzten nicht und das erste gewachsene Röhrchen auf Testagar ausgestrichen.

5. Versuche mit Oxydationsmitteln

a) Versuchsanordnung im einzelnen

Als Oxydationsmittel wurden verwandt : KMnO_4 und KClO_3 , je in 0,1 mol. Lösung, 1 mol H_2O_2 , und 0,5 mol. FeCl_3 . Als Testmedium diente natursaurer Bouillon, die bei den Serumversuchen Serum enthielt im Verhältnis von 1 Teil Serum und 3 Teilen Bouillon. Als Testkeime dienten *Bac. anthracis*, *Bac. subtilis* und *E. Coli*.

Versuche zur Ermittlung einer Wachstumshemmung der Testkeime

Die Testkeime wurden in Bouillon bei 37°C 18 Stunden vorgezchtet, so dass bei den Bazillenarten in den Kulturen vornehmlich vegetative Formen waren. Diese jungen Kulturen wurden mit Bouillon bzw. Serum im Verhältnis 1:100 verdünnt, wodurch man in üblicher Weise das beimpfte Testmedium erhielt. In das 1. Röhrchen der Verdünnungsreihe kam zu gleichen Teilen die Lösung der zu testenden Substanz.

b) Ergebnisse

In den nachfolgenden Tabellen ist die mittlere Hemmkonzentration der zu testenden Substanz wiedergegeben, d.h. die Konzentration zwischen dem letzten nichtbewachsenen und ersten bewachsenen Röhrchen einer Reihe.

Tab. 1

Die Wachstumshemmung von Mikroorganismen durch Oxydationsmittel (Medium: Bouillon)

Wirkstoffe	<i>E. Coli</i>	<i>Bac. subtilis</i>	<i>Bac. anthracis</i>
KMnO_4	0,0187	0,0187	0,0187
KClO_3	0,05	0,05	0,05
H_2O_2	0,00146	0,00146	0,00234
FeCl_3	0,00585	0,00585	0,00585

Tab. 2

Die Wachstumshehmung von Mikroorganismen durch
Oxydationsmittel (Medium: Serumbouillon)

Wirkstoffe	E.Coli	Bac.subtilis	Bac.anthraxis
KMnO ₄	0,0375	0,0375	0,0375
KClO ₃	0,05	0,05	0,05
H ₂ O ₂	0,0468	0,0468	0,0468
FeCl ₃	0,0117	0,0117	0,0117

Anmerkung: Konzentrationen in Mol

Bei den in Tab. 2 wiedergegebenen Versuchen war die Konzentration der Impfkeime doppelt so hoch wie sonst (s. Versuchsanordnung).

Aus Tab. 1 und 2 ist zu entnehmen, dass besonders H₂O₂ bezogen auf die molare Konzentration gegen alle drei verwandten Keimarten wirksam ist. Dann folgen abnehmend FeCl₃, KMnO₄ und KClO₃, welches am schlechtesten wirkt. Im letzteren Fall wurde die bakteriostatische Grenze nicht erreicht. Eiweisszusätze in Form von Serum verschlechtern die Wirkung eindeutig und zwar besonders stark bei H₂O₂ (erforderliche Konzentrationen etwa das 40fache und bei FeCl₃ etwa das 20fache).

Schwierigkeiten der Ablesung des Testergebnisses ergaben sich bei Verwendung von KMnO₄, da in den ersten Röhrchen der Verdünnungsreihe Braunstein ausfiel, so dass der Inhalt des ersten Röhrchens sogar fest wurde. Da die Hemmgrenze in einem Konzentrationsbereich lag, bei dem noch eine überstehende Flüssigkeit zu erkennen war, wurde das darin erfolgte Wachstum als Kriterium für die Ablesung des Testergebnisses verwandt. Ausserdem wurde das so ermittelte Resultat durch Anlegen von Subkulturen auf Agar kontrolliert. Verwandt wurde nur nichthämolytisches Serum, da die Anwesenheit von Hämoglobin die Wirkung

besonders aufhebt.

Versuche zur Ermittlung der Bakterizidie

a) Versuchsanordnung im einzelnen

Mit denselben Substanzen, denselben Medien und denselben Testkeimen wurden Bakterizidieversuche durchgeführt. Diese Versuche wurden sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 37°C angesetzt. Die Abimpfung der Keime erfolgte mit einer Normalöse nach 1', 5', 10', 20', 30', 60', 2h, 3h, 5h, in einzelnen Fällen auch nach 10h. Für die Versuche mit vegetativen Zellen von *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis* und *E.Coli* wurden 0,1 ml einer 18 Stunden alten Bouillonkultur zu 5 ml einer wässrigen Lösung der verwandten Oxydationsmittel in der gewünschten Konzentration gegeben. Bei den Versuchen mit Sporen wurden 8 Tage alte Schrägagarkulturen von *Bac. subtilis* und *Bac. anthracis* mit 6 ml Aqua dest. abgeschwemmt und nach feiner Suspendierung durch Schütteln davon 0,1 ml zu 5 ml der wässrigen Lösung des Oxydationsmittels gegeben.

b) Ergebnisse

Die Ergebnisse der Bakterizidieversuche mit verschiedenen konzentrierten Oxydationsmittellösungen sind in Tab. 3 wiedergegeben. Diese Versuche wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt.

Aus Tab. 3 ist zu entnehmen, dass unter Verwendung von Bouillon als Testmedium lediglich die höchste Konzentration von KMnO_4 (0,1 mol) einen nennenswerten Effekt und vergleichbaren gegen *E.Coli* und die vegetativen Formen von *Bac. subtilis* und *Bac. anthracis* hat. Die bei der Fragestellung dieser Arbeit besonders interessierenden Dauerformen der beiden Bazillenarten, die Sporen,

Tab. 3

Der bakterizide Effekt von Oxydationsmitteln gegenüber verschiedenen Bakterienarten
(Zimmertemperatur)

Wirk- stoffe in Mol	Konz.	Bac. subtilis				Bac. anthracis				E. Coli			
		B	veg.	S	B	Sporen	S	B	veg.	S	B	Sporen	S
KMnO ₄	0,1	<1'	>5h		<1'	>5h		<1'	>5h		<1'	>5h	
	0,05	>1'<5'	>5h		<1'	>5h		<1'	>5h		>1'<5'	>5h	
	0,025	>20'<30'			<1'			<1'			>20'<30'		
	0,0125	>30'<50'			>20'<30'			>20'<30'			>30'<60'		
	0,006	>60'<2h			>60'<2h			>60'<2h			>60'<2h		
	0,1	>10h	>10h		>10h	>10h		>10h	>10h		>10h	>10h	
KClO ₃ H ₂ O ₂	0,1	<1'	>5'<10'		<1'	>5h		<1'	>5h		>5h	>5h	
	0,5												
	0,25												
	0,125												
	0,05	>20'<30'	>5h		>20'<30'	>5h		>20'<30'	>5h		>30'<60'	>5h	
	0,025	>30'<60'	>5h		>30'<60'	>5h		>30'<60'	>5h		>60'<2h	>5h	
FeCl ₃	0,0125	>60'<2h			>60'<2h			>60'<2h			>60'<2h		
	0,005	>3h<5h			>3h<5h			>3h<5h			>3h<5h		
	0,001	<1'	<1'		<1'	>5h		<1'	<1'		<1'	>5h	
	0,5												
	0,25												
	0,06	>20'<30'	>30'<60'		>20'<30'	>30'<60'		>20'<30'	>30'<60'		>30'<60'	>30'<60'	
	0,03	>1h<3h	>5h		>1h<3h	>5h		>1h<3h	>5h		>1h<3h	>5h	
	0,008												
	0,006												
	0,003												
	0,0008												

Zeichenerklärung:

B = Bouillon als Suspensionsmedium, S = Serumbouillon als Testmedium

Die in Tab. 3 angegebenen Zahlen bedeuten die zeitlichen Grenzen, in denen unter den Versuchsbedingungen eine Keimabtötung erfolgte.

wurden aber selbst bei einer Einwirkungszeit von 5 Stunden nicht abgetötet. Erwartungsgemäss war dieses Resultat mit Serumbouillon nicht besser.

H₂O₂ hat ebenfalls nur in der verhältnismässig hohen Konzentration von 0,5 Mol eine nennenswerte Wirkung gegen Sporen von Bac. anthracis. Demgegenüber werden aber die Sporen von Heubazillen bei derselben Wirkstoffkonzentration nach einer Einwirkungsdauer von 5 Stunden nicht abgetötet.

Die Sensibilität von Colibakterien erscheint etwas geringer als die von Milzbrandbazillen und -sporen.

KClO₃ ist in der höchsten verwandten Konzentration von 0,1 mol gegen alle verwandten Keimarten und deren Sporen praktisch wirkungslos.

Gegen FeCl₃ sind die Sporenformen der beiden Bazillenarten ziemlich resistent. Eine gewisse Sensibilität ist lediglich zu beobachten bei den vegetativen Formen von Bac. anthracis und Bac. subtilis.

In Tab. 4 sind die Ergebnisse derselben Art von Bakterizidieversuchen wiedergegeben wie in Tab. 3. Die Versuchsanordnung unterscheidet sich lediglich durch die hier gewählte Temperatur von 37°C (Wasserbad).

Aus Tab. 4 ist zu entnehmen, dass die Abtötungszeiten sich praktisch durch die erhöhte Temperatur nicht verändern, wenn auch gelegentlich Werte festgestellt wurden, die um eine Zeitstufe kleiner sind.

Tab. 4

Der bakterizide Effekt von Oxydationsmitteln gegenüber verschiedenen Bakterienarten
(37°C)

Wirk- stoffe	Konz. in mol	Bac. subtilis			Bac. anthracis			E. Coli		
		B	veg.	S	B	veg.	S	B	S	S
KNO ₃	0,1	>1'			>5h					
	0,05	>1'	>5h			>3h<5h	>5h	<1'	>5h	
	0,02	>1'<5'			>1'<5'			>5'<10'		
H ₂ O ₂	0,1	>5h	>5h		>5h	>5h	>5h	>5h	>5h	
	0,5		>5'<10'		>3h<5h			>1'<5'	>10'<20'	>5'<10'
	0,25							>20'<30'	>1h<3h	
FeCl ₃	0,05	>10'<20'								
	0,025	>10'<20'						>20'<30'	>20'<30'	>30'<60'
	0,0125	>30'<60'						>30'<60'	>30'<60'	>60'<2h
	0,005	>60'<2h								
	0,5		<1'		>5h					
FeCl ₃	0,06		>5'<10'		>5h			>30'<60'	>60'<2h	>10'<20'
	0,03	>10'<20'						>5'<10'		>60'<2h
	0,0078	>30'<60'								
	0,005									
	0,003									
	0,00078									

6. Versuche mit kapillaraktiven Substanzen

a) Versuchsanordnung im einzelnen

Zunächst wurde die bakteriostatische Aktivität verschiedener kapillaraktiver Substanzen ausgetestet. Die Versuchsanordnung war prinzipiell dieselbe wie bei den Versuchen mit Oxydationsmitteln (s. Kapitel 5). Als Testsubstanzen wurden benutzt: Das nicht ionische Tween 80, das kationaktive Cetylpyridiniumchlorid (CPC), das anionenaktive Duponol (Übersicht siehe G l a s s - m a n n). Von diesen Substanzen wurden wässrige Stammlösungen hergestellt. Dabei beziehen sich die Konzentrationsangaben von Tween 80 auf Volumenprozent, bei Duponol und CPC auf Gewichtsprozent.

b) Ergebnisse

In Tab. 5 und 6 sind die mittleren Hemmkonzentrationen im Dilutionstest wiedergegeben.

Tab. 5

Die Wachstumshemmung von Mikroorganismen durch kapillaraktive Substanzen (Medium: Bouillon)

Wirkstoffe	E.Coli	Bac. subtilis	Bac. anthracis
Duponol	>1	0,023	0,023
Tween 80	>1	>1	>1
CPC	0,0047	0,00019	0,0011

Tab. 6

Die Wachstumshemmung von Mikroorganismen durch kapillaraktive Substanzen (Medium: Serumbouillon)

Wirkstoffe	E.Coli	Bac. subtilis	Bac. anthracis
Duponol	>1	0,093	0,093
Tween 80	>1	>1	>1
CPC	0,0375	0,00035	0,0047

Anmerkung: Mittlere Hemmkonzentration in %.

Aus Tab. 5 ist zu entnehmen, dass Tween 80 Coli-bakterien sowie die vegetativen Formen von Bac. subtilis und Bac. anthracis praktisch, d.h. bei Konzentrationen grösser als 1%, nicht hemmt. Duponal ist gegen E.Coli bei derselben hohen Konzentration unwirksam, hemmt aber die vegetativen Formen der Bazillenstämme bei einer Konzentration von 0,23%. Am wirksamsten ist CPC. Die vegetativen Formen der Heubazillen erwiesen sich am empfindlichsten, dann folgen die von Milzbrandbazillen und E.Coli.

Zu berücksichtigen ist allerdings, dass bekanntermassen die Ergebnisse dieser Art von Versuchen mit CPC erhebliche Streubreite haben, so dass die ermittelten Unterschiede in der Sensibilität der drei Testorganismen nicht unbedingt als absolute Werte aufgefasst werden können. Deutlich ist aber auf jeden Fall, dass CPC von den drei Testsubstanzen der wirksamste ist.

Aus Tab. 6 ist zu entnehmen, dass die Anwesenheit von Eiweiss im allgemeinen keine nennenswerte Änderung des Hemmeffekts bewirkt. Eine grössere Schwankung wurde beobachtet bei dem Versuch mit CPC und E.Coli, bei dem die Resistenz des Testkeims um eine Zehnerpotenz zunahm, andererseits bedeutet diese Resistenzzunahme lediglich eine Verschiebung um drei Verdünnungsstufen. Eine Signifikanz dieses Unterschiedes wäre nur mit einer sehr grossen Anzahl gleicher Versuche gegebenenfalls nachzuweisen.

Zu vermerken bleibt, dass bei der Verwendung von Duponal in allen verwandten Röhrchen, sowohl bei Verwendung von Bouillon als auch von Serumbouillon, eine Ausfällung eintritt, wodurch die Ablesung des Testergebnisses erschwert wurde. Gewertet wurde deshalb eine Trübung der überstehenden Flüssigkeit als Bakterienwachstum. Die Ablesungen wurden verifiziert durch Anlegen von Subkulturen auf Agar. Im Falle

einer Bakteriostase ist eine nennenswerte Reduktion der Koloniezahl erfahrungsgemäss zu beobachten.

Versuche zur Ermittlung der Bakterizidie

a) Versuchsanordnung im einzelnen

Die Versuchsanordnung sowie die Versuchszeiten entsprechen Kapitel 5. Von den drei Wirkstoffen wurden für den Bakterizidieversuch nur die in Anlehnung an die Bakteriostasewerte (s.Tab. 5 und 6) interessierenden Konzentrationen verwandt. Grundsätzlich wurde dabei so vorgegangen, dass die Konzentrationen gewählt wurden, die im Bakteriostaseversuch den Konzentrationen des letzten und drittletzten nicht bewachsenen Röhrchens der Verdünnungsreihe entsprachen.

b) Ergebnisse

In Tab. 7 sind die Ergebnisse der Untersuchungen über den bakteriziden Effekt von Kapillaraktiven Substanzen, Oberflächenaktiva, bei Zimmertemperatur wiedergegeben. Berücksichtigt wurde ferner der Einfluss von Serum im Testmedium.

Aus Tab. 7 ist zu entnehmen, dass bei Zimmertemperatur die recht hohe Konzentration von Tween 80 (1%) bei einer maximalen Einwirkungsdauer von 5 Stunden die Testkeime nicht abtötet, gleichgültig, ob vegetative oder Sporenformen verwendet wurden.

Mit Duponol sind die Resultate unterschiedlich. Die vegetativen Formen von Bac. subtilis und Bac. anthracis werden noch verhältnismässig leicht abgetötet, wobei allerdings die Anwesenheit von Serum das Resultat eindeutig verschlechtert und zwar bei Heubazillen mehr als bei Milzbrandbazillen. Die Sporenformen beider Bazillentypen sind gleich unempfindlich und werden mit und ohne Serumzusatz bei einer Einwirkungsdauer von 5 Stunden nicht abgetötet.

Tab. 7

Der bakterizide Effekt von Oberflächenaktiva gegenüber verschiedenen Bakterienarten
(Zimmertemperatur)

Wirk- stoffe	%	Bac. subtilis				Bac. anthracis				E. Coli			
		veg.		Sporen		veg.		Sporen					
		B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S
GPC	0,1	<1'	<1'	>10'<20'	>2h<3h			>30'<60'	>60'<2h				
	0,05			>20'<30'	>3h<5h			>60'<2h	>60'<2h				
	0,025		>5'<10'	>30'<60'	>5h			>2h<3h	>3h<5h				
	0,006		>20'<30'			>5'<10'		>30'<60'		>60'<2h			
	0,003		>30'<60'			>2h<3h		>1h<3h		>5h			
	0,001		>2h<3h			>5h							
Tween 80	0,0005	>5h				>10'<20'							
	1					>5h		>5h					
Dupo- nol	1												
	0,5												
	0,25												
	0,1												
	0,06												
	0,03												
	0,01												

Von den drei Testsubstanzen hat CPC die beste Wirkung. Verständlicherweise sind die vegetativen Bazillenformen am empfindlichsten. Jedoch werden auch die Sporenformen, wenigstens noch bei Konzentrationen zwischen 0,1 und 0,05%, bei einer Einwirkungsdauer zwischen 10 Minuten und 60 Minuten abgetötet. Auch hier wird der bakterizide Effekt durch die Anwesenheit von Serum reduziert.

In Tab. 8 sind die Ergebnisse derselben Versuche bei 37°C wiedergegeben.

Aus Tab. 8 ist zu entnehmen, dass auch bei 37°C Tween 80 in einer Konzentration von 1% die verwandten Testkeime nicht abtötet. Bei Verwendung von Duponol stellt man fest, dass im wesentlichen die Wirkung bei 37°C im Gegensatz zu den Versuchen bei Zimmertemperatur nicht besser sind. Es ist lediglich bei einzelnen Testen eine Verschiebung um eine Zeitstufe zu beobachten. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Verwendung von CPC als Testsubstanz.

Zu erwähnen ist dabei die Erhöhung des Effekts gegen Milzbrandsporen im serumhaltigen Milieu bei 37°C. Die Sporen wurden durch eine 0,025%ige CPC-Lösung nach ca. 20 Minuten abgetötet, während bei derselben Konzentration und Zimmertemperatur dazu 3 - 5 Stunden nötig sind.

Tab. 8

Der bakterizide Effekt von Oberflächenaktiva gegenüber verschiedenen Bakterienarten
(37°C)

Wirkstoffe	%	Bac. subtilis				Bac. anthracis				E. coli			
		B	veg.	S	Sporen	B	veg.	S	Sporen	B	S	B	S
CPG	0,1				>1' < 5'				>20' < 30'				
	0,05	<1'	>1' < 5'	>10' < 20'	>1h < 3h				>60' < 2h				
	0,025	>5' < 10'	>10' < 20'	>20' < 30'	>3h < 5h				>60' < 2h				
	0,006					>1' < 5'			>2h < 3h				
	0,005	>30' < 60'											
	0,001	>60' < 2h				>5' < 10'							
Tween 80	0,0005	>3h < 5h											
	1	>5h	>5h	>5h	>5h	>5h	>5h	>5h	>5h	>2h < 3h	>10' < 20'		
Duponol	1												
	0,5		>30' < 60'		>5h								
	0,25		>2h < 3h										
	0,1	>5' < 10'				>1' < 5'							
	0,06	>20' < 30'			>5h	>1' < 5'							

1
10
10
10
1

7. Die kombinierte Anwendung von Oxydations-
mitteln und kapillaraktiven Substanzen

a) Versuchsanordnung im einzelnen

In dieser Versuchsserie wurde untersucht, inwie-
weit sich kapillaraktive Substanzen und Oxydations-
mittel in ihrer antibakteriellen Wirkung synergistisch
oder antagonistisch beeinflussen oder ob sie sich
gegenseitig indifferent verhalten. Die Versuche wur-
den in zwei grossen Gruppen durchgeführt und zwar
zur Ermittlung der Bakteriostase und der Bakterizi-
die bei Verwendung verschiedener Konzentrationen der
beiden Arten von Wirkstoffen.

Bei Ermittlung der Bakteriostase wurden ver-
wandt E.Coli und die vegetativen Formen von Bac.
subtilis und Bac. anthracis. Der Ansatz war stets
folgender

1	ml	Bouillon mit Testkeimen,
0,5	ml	einer wässrigen Lösung der ver-
		wandten kapillaraktiven Substanz,
0,5	ml	einer wässrigen Lösung des ver-
		wandten Oxydationsmittels.

In den nachfolgenden Tabellen sind stets die Endkon-
zentrationen der Wirkstoffe angegeben. 16 Stunden
Bouillonkulturen von E.Coli, Bac. subtilis und Bac.
anthracis (und damit vorwiegend vegetative Formen)
wurden mit Bouillon auf 10^{-2} verdünnt. Diese Keim-
suspension diente als beimpftes Testmedium. Das Test-
ergebnis wurde nach 18stündiger Bebrütung bei 37°C
nach dem makroskopisch feststellbaren Wachstum der
Testkeime ermittelt.

Der bakterizide Effekt verschiedener Kombina-
tionen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln
wurde ermittelt durch Verwendung einer Mischung von

0,1	ml	Keimsuspension,
2,5	ml	einer wässrigen Lösung eines
		Oxydationsmittels,
2,5	ml	einer solchen einer oberflächen-
		aktiven Substanz.

Dabei wurden aber nur die Konzentrationen gewählt, die nach dem Ergebnis der Bakterio-
staseversuche von Interesse waren. Berücksichtigt wurden dabei auch die in der Praxis erforderlichen geringeren Wirkstoffkonzentrationen. In den Tabellen 9 - 14 sind die Versuchsanordnungen markiert, die zu den Bakterizidietesten herausgezogen wurden.

Bei den Bakterizidieversuchen wurden von den Bazillen sowohl die vegetativen Formen als auch die Sporen benutzt. Als Suspension vegetativer Formen diente eine 18 Stunden alte Bouillonkultur. Die Sporensuspension wurde hergestellt durch Abschwemmen einer 8 Tage alten Schrägagarkultur mit 6 ml Aqua dest. Die Überimpfungen erfolgten nach einer Versuchsdauer von 1', 5', 10', 20', 30', 60', 2h, 3h, 5h bei Zimmertemperaturen bzw. 37°C mit einer Normalöse auf 10 ml Bouillon.

b) Ergebnisse

In Tab. 9 sind die Ergebnisse des Bakterio-
staseversuchs unter Verwendung von Bouillon und E.Coli als Testkeim bei einer Kombination von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln in verschiedenen Konzentrationen wiedergegeben.

Aus Tab. 9 ist zu entnehmen, dass Tween 80, das selbst unwirksam ist, die antibakterielle Wirkung von KMnO_4 nicht beeinflusst. Auch die Kombinationen von Tween 80 und KClO_3 ist bei allen verwandten Konzentrationen unwirksam. Ferner verhält sich Tween 80 gegenüber dem antibakteriellen Effekt von H_2O_2 und FeCl_3 indifferent.

Die Kombination von CPC und KMnO_4 erweist sich dagegen noch wirksam bei Konzentrationen, bei denen die Substanzen im einzelnen keinen Effekt haben. Die Kombination von CPC und KClO_3 ist noch bei einer CPC-Konzentration wirksam, die allein ineffektiv ist, obwohl KClO_3 allein bei keiner der verwandten Kon-

Tab. 9

Die bakterio-statische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Bouillon, Testkeim: E.Coli)

	KMnO ₄	KClO ₃	H ₂ O ₂	FeCl ₃	
	0,025 0,015 0,006 0	0,015 0,013 0	0,008 2,004 2,002 0,004 0,005 0	0,03 0,015 0,008 0,004 0,002 0	
Tween 80	0,5 0,25 0,125 0,0625 0,03125 0	+++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++
7FC	0,025 0,0125 0,00625 0,0031 0,00156 0,00078 0	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++
Dupo-nol	0,5 0,25 0,125 0	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++

Anm. Oxydationsmittel Konzentrationsangabe in Mol %
 Oberflächenaktiva
 Ø bedeutet klar unbewachsen
 + leicht trüb bewachsen
 ++ trüb "
 +++ stark trüb "

X Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwandt.

zentration eine Bakteriostase auslöst. Die Kombination von CPC und H_2O_2 zeigt, dass ein nennenswerter besserer antibakterieller Effekt erreicht wird als bei der Verwendung der beiden Wirkstoffe allein. Dasselbe ist der Fall bei der Kombination von CPC und $FeCl_3$.

Die Kombination von Duponol und $KMnO_4$ erweist sich nur in der höchstverwandten Duponolkonzentration besser als die beiden Wirkstoffe allein. Alle Kombinationen von Duponol mit $KClO_3$ sind ähnlich wie die mit H_2O_2 wirkungslos, während die Kombinationen von Duponol und $FeCl_3$ sich ähnlich verhalten wie die mit $KMnO_4$.

Ergänzend sei zur Auswertung dieser Versuchsreihe erwähnt, dass gelegentlich, d.h. bei Verwendung von Duponol und $KMnO_4$ die Ablesung erschwert war, weshalb das Resultat unter Anlegung von Subkulturen auf Agar gewonnen wurde.

In Tab.10 sind die prinzipiellen gleichen Versuche durchgeführt worden, jedoch unter Verwendung eines Serumzusatzes. Dabei enthielt der Ansatz statt Bouillon Serumbouillon (ein Teil Serum + 2 Teile Bouillon).

Aus Tab.10 ist zu entnehmen, dass durch Serumzusatz sich das Ergebnis der Kombinationen von Tween 80 mit $KMnO_4$, $KClO_3$, H_2O_2 nicht verändert in Verhältnis zur Wirkung der Einzelsubstanzen bei Serumzusätzen zum Nährmedium. Dagegen ist die Kombination von Tween 80 und $FeCl_3$ im Verhältnis zu Versuchen mit einfacher Bouillon besser als die bei den Testsubstanzen allein.

Die Kombination von CPC mit $KMnO_4$, H_2O_2 , $FeCl_3$ und $KClO_3$ sind ähnlich wie bei Verwendung von einfacher Bouillon, besser als die Testsubstanzen allein.

Tab. 10

Die bakteriostatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Serumbouillon, Testkeim: E.Coli)

	KMnO ₄			KClO ₃			H ₂ O ₂			FeCl ₃			
	0,015	0,013	0,006	0	0,025	0,013	0	0,06	0,03	0,045	0,0036	0,0036	0
Tween 80	0,5	+	++	+++	Ø*	++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	+
	0,1	+	++	+++	+	++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	++
	0	+	++	+++	+	+++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	++
CPC	0,05	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	0,025	Ø	Ø	Ø	Ø*	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+
	0,0125	Ø	Ø	+	Ø*	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø*	Ø	+
	0,006	Ø*	+	++	+	+	+	Ø*	Ø	Ø	Ø*	Ø	+
	0	+	++	+++	+	+	+++	Ø*	Ø	Ø	Ø	Ø	+++
Duponol	0,5	+	++	+++	+	++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	+++
	0,1	+	++	+++	+	++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	+++
	0	+	++	+++	+	++	+++	Ø*	Ø	Ø*	Ø	Ø	+++

X Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwendet.

Die Kombinationen von Duponol mit KMnO_4 , H_2O_2 , KClO_3 haben keine bessere Wirkung als die Testsubstanzen allein. Lediglich die Kombinationen mit FeCl_3 haben mit der höchsten Duponolkonzentration eine bessere Wirkung als FeCl_3 allein (Duponol allein war in allen Konzentrationen wirkungslos).

Damit muss zu den in Tab 9 und 10 wiedergegebenen Versuchen gesagt werden, dass die Anwesenheit von Serum den antibakteriellen Effekt der Kombinationen von kapillaraktiven Substanzen und Oxydationsmitteln nur unwesentlich verändern.

In Tab.11 sind die Ergebnisse der Versuche über die bakteriostatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln unter Verwendung von vegetativen Formen von *Bac.subtilis* wiedergegeben.

Aus Tab. 11 ist zu entnehmen, dass Tween 80 allein unter den Versuchsbedingungen keinen bakteriostatischen Effekt zeigt. Die Zugabe von Tween 80 zu verschiedenen Konzentrationen von KMnO_4 , KClO_3 , H_2O_2 , FeCl_3 verändert die antibakterielle Wirkung der Oxydationsmittel nicht.

CPC allein hat eine deutliche messbare Wirkung, die durch KMnO_4 , H_2O_2 und FeCl_3 verstärkt wird. Besonders ist zu bemerken, dass auch durch KClO_3 , das in den angewandten Konzentrationen alleine keinen Effekt hat, die Wirkung von CPC etwas verbessert wird.

Bei Verwendung von Duponol wurde ein Resultat erzielt, das der Versuchsserie mit CPC entspricht.

Die Versuche in Tab.12 entsprechen denen von Tab.11, jedoch wurde dem Reaktionsgemisch Serumbouillon statt Bouillon zugesetzt.

Tab. 11

Die bakteriostatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Bouillon, Testkeim: Bac.sub.veg.)

	KMnO ₄	KClO ₃	H ₂ O ₂	FeCl ₃	
Tween 80	0,5 0,25 0,125 0	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++
OPC	0,001 0,0005 0,00025 0,000125 0,000062 0,000031 0	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++
Duponol	0,125 0,0625 0,03125 0,0156 0,0078 0,0039 0	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++

× Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwandt.

Tab. 12

Die bakterienstatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Serumbouillon, Testkeim: Bac.sub.veg.)

	KMnO ₄	KClO ₃	H ₂ O ₂	FeCl ₃	
Tween	0,035	0	0,06	0,03	0,045
80	+	+	+	+	+
CPC	0,002	0,013	0	0,06	0,031
0,001	+	+	+	+	+
0,0005	+	+	+	+	+
0,00025	+	+	+	+	+
Dupo-	0,25	0,025	0	0,06	0,045
no1	0,125	0,013	0	0,06	0,031
0,0625	+	+	+	+	+
0,0312	+	+	+	+	+
0	+	+	+	+	+

~~X~~ Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwandt.

Die Versuche mit Tween 80 zeigten prinzipiell die gleichen Ergebnisse wie die Versuche ohne Serumzusatz, d.h. Tween 80 beeinflusst die Oxydationsmittel weder in einem synergistischen noch in einem antagonistischen Sinn. Lediglich die für eine Bakterio-stase erforderlichen Grenzkonzentrationen an Oxydationsmitteln in Anwesenheit von Tween 80 differieren und zwar vornehmlich bei Verwendung von H_2O_2 .

Die Wirkung von CPC wird durch die Anwesenheit der verschiedenen Oxydationsmittel, einschliesslich $KClO_3$, in ähnlicher Weise verbessert wie bei Verwendung von Bouillon ohne Serumzusatz. Dasselbe gilt für die Versuchsreihe mit Duponol.

In Tab.13 sind die Resultate der Versuche über die antibakterielle Aktivität der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln unter Verwendung der vegetativen Formen von Bac. anthracis und Bouillon wiedergegeben.

Aus Tab.13 ist zu entnehmen, dass Tween 80 die antibakterielle Wirkung der Oxydationsmittel ebenso wenig beeinflusst wie bei den oben beschriebenen Versuchen mit E.Coli und Bac. subtilis.

Die Kombinationen von CPC und Oxydationsmitteln in verschiedenen Konzentrationen sind auch gegen Milzbrandbazillen besser wirksam als die beiden Stoffgruppen allein. Auch hier hat das allein unwirksame $KClO_3$ offensichtlich einen Effekt in der Kombination. Dasselbe gilt auch für die Versuchsserie mit Duponol und Oxydationsmitteln.

In Tab.14 wurden die Kombinationsversuche unter Verwendung eines Serumzusatzes zum Reaktionsgemisch weitergeführt.

Tab. 13

Die bakteriostatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Bouillon, Testkeim: Milzbrandbazillen veg.)

	KMinO ₄	KClO ₃	H ₂ O ₂	FeCl ₃
Tween 80	0,5	0	0	0
	0,125	0	0	0
CFC	0,0625	0	0	0
	0,003	0	0	0
	0,00156	0	0	0
	0,00078	0	0	0
	0,00039	0	0	0
	0,00019	0	0	0
Dupo-nol	0,06	0	0	0
	0,03	0	0	0
	0,0156	0	0	0
	0,0078	0	0	0
	0,0039	0	0	0

Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwandt.

Tab. 14

Die bakteriostatische Wirkung der Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Serumbouillon, Testkeim: Milzbrandbazillen veg.)

	KMnO ₄	KClO ₃	H ₂ O ₂	FeCl ₃											
	0,015	0,013	0	0,025	0,013	0	0,02	0,013	0	0,015	0,013	0	0,015	0,013	0
Tween	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,0125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,006	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GPC	0,003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,00156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,00078	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dupo-	0,0625	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nol	0,03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,0156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

X Diese Konzentrationsverhältnisse wurden für Bakterizidversuche verwandt.

Die antibakterielle Aktivität der Oxydationsmittel wird auch hier durch verschiedene Konzentrationen des allein unwirksamen Tween 80 nicht beeinflusst. Einen Ausnahmefund stellt die Kombination der höchstverwandten Tween-Konzentration (0,5%) mit H_2O_2 (0,03 mol) dar, da bei dieser H_2O_2 -Konzentration allein eine Wachstums hemmung nicht vorlag. Da es sich nur um eine einzelne Konzentrationsstufe handelt, mag die Signifikanz dieses Befundes dahingestellt bleiben. Auch bei dieser Versuchsserie ist festzustellen, dass in Gegenwart von Serum zur Erreichung eines bakteriostatischen Effekts höhere Konzentrationen von H_2O_2 und $FeCl_3$ erforderlich sind, als in Anwesenheit von Bouillon allein.

Die Kombinationen von CPC und Oxydationsmitteln sind besser als die entsprechenden Konzentrationen der einzelnen Stoffe allein. Dies gilt auch für die Kombinationen von CPC und $KClO_3$. Ein vergleichbares Ergebnis wird erzielt bei Verwendung von Kombinationen von Duponol und Oxydationsmitteln. Eine Ausnahme stellt jedoch hier die Kombination von Duponol und $KClO_3$ dar.

Versuche zur Ermittlung der Bakterizidie

a) Versuchsanordnung im einzelnen

In Tab. 15 - 18 sind die Ergebnisse der Bakterizidieversuche unter Verwendung bestimmter Kombinationen von Oxydationsmitteln und Oberflächenaktiva wiedergegeben. Es war natürlich unmöglich, sämtliche bei den Bakteriostaseversuchen angewandten Kombinationsmöglichkeiten in Zeitversuchen auszutesten. Deswegen wurden aus der Vielzahl dieser Kombinationen die ausgewählt, die ein gewisses Interesse haben könnten. Gelegentlich wurden auch solche Kombinationen ausgetestet, die bei der Bakteriostase noch eine

makroskopische Trübung, d.h. ein Keimwachstum ergeben hatten. Dabei wurde daran gedacht, dass unter Umständen ein Abtötungseffekt erst nach mehreren Teilungen möglicherweise erfolgt. Dadurch entsprechen sich in Tab. 15-18 nicht alle Versuche.

b) Ergebnisse

In Tab. 15 und 16 sind die Ergebnisse der Bakterizidieversuche mit Kombinationen von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln (Medium: Bouillon/Zimmertemperatur bzw. 37°C) mit den verschiedenen Testorganismen wiedergegeben. Bei *Bac. subtilis* und *Bac. anthracis* wurden auch Sporensuspensionen verwandt.

Aus Tab. 15 und 16 ist zu entnehmen, dass die Abtötungszeiten im allgemeinen sehr lang sind. Bei einer Versuchsdauer von 5 Stunden wurde sogar häufig noch keine Grenze erreicht. Verständlicherweise sind die Abtötungszeiten für die vegetativen Formen der Sporenbildner kürzer als bei den Sporen. Auffallend ist aber, dass die Anthrax-Sporen nennenswert widerstandsfähiger als die Heubazillensporen sind gegenüber den recht hohen Konzentrationen von KMnO_4 (0,05 mol) und Tween 80, CPC, Duponal (Konzentrationen von 0,5, 0,05, 0,5%). Durch die Erhöhung der Versuchstemperatur auf 37°C ändern sich diese Werte praktisch nicht. Auch die Kombinationen von KClO_3 mit den verschiedenen Oberflächenaktiva in recht hohen Konzentrationen ergeben ein ähnliches Resultat bei Zimmertemperatur und bei 37°C.

Bei den Kombinationen von H_2O_2 mit Oberflächenaktiva sind die Ergebnisse bei Verwendung der hier besonders interessierenden Sporen etwas besser, besonders bei der Kombination von H_2O_2 und CPC. Auch kann das Resultat weiter verbessert werden bei 37°C. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass die Konzentrationen der Oberflächenaktiva in der Kombination

Tab. 15

Die bakterizide Wirkung von Oberflächenaktiva und Oxydationsmitteln

(Medium: Bouillon, Zimmertemperatur)

Wirk- stoffe	OM mol	OA %	Bac. subtilis		Bac. anthracis		E. coli	
			veg.	Sporen	veg.	Sporen	veg.	Sporen
KMnO ₄	0,05	T 0,5		>20' <30'		>5h		
		C 0,05		>10' <20'		>60' <2h		
		D 0,5		>10' <20'		>5h		
		C 0,0008						>60' <2h
		T 0,25		>30' <60'		>60' <2h		>30' <60'
	0,025 0,0125	C 0,03		>20' <30'		>30' <60'		>20' <30'
		C 0,004						>2h <3h
		C 0,001		>30' <60'				
		D 0,5						>2h <3h
		C 0,03						
	0,004	C 0,004		>2h <3h		>2h <3h		
		D 0,06		>20' <30'		>2h <3h		
		C 0,008		>60' <2h				
		C 0,0005		>5' <10'		>30' <60'		
		C 0,05		>10' <20'		>2h <3h		
KClO ₃	0,05	D 0,5		>5h		>5h		
		T 0,5		>5h		>5h		
		C 0,003						>2h <3h
		C 0,0015						>5h
		C 0,0002						
	0,125 0,006	D 0,015		>2h <3h		>3h <5h		
		C 0,0005		>20' <30'				
		C 0,0005		>2h <3h		>2h <3h		
		D 0,125		>1' <5'				
		C 0,03		>10' <20'				

Tab. 15 (Fortsetzung)

Wirk- stoffe	mol	OA %	Bac.subtilis veg.	Sporen	Bac.anthraxis veg.	Sporen	E.Coli
OM	0,5	G 0,05 0,025		>5'<10' >10'<20' >10'<20'			
H ₂ O ₂	0,25	D 0,5 T 0,5 G 0,05 0,025				>2h<3h >5'<10' >20'<30' >60'<2h	
	0,1	D 0,5		>60'<2h			
	0,008	T 0,5 D 0,008		>20'<30'	>3h<5h		>3h<5h
	0,004	T 0,04 D 0,03		>20'<30'	>60'<1h >2h<3h		>5h >3h<5h
	0,0019	T 0,25 D 0,06		>10'<20'			
	0,0005	D 0,003			>2h<3h >3h<5h		
	0,0015	G 0,003 0,0008				>3h<5h >3h<5h >30'<60'	
FeCl ₃	0,25	T 0,5 D 0,5		>5h >5h >10'<20'			>2h<3h
	0,015	G 0,05			>5'<10' >60'<2h >3h<5h		
	0,0078	T 0,5 D 0,15		>10'<20' >20'<30' >30'<60'			
		D 0,004 G 0,01					
		0,0008 0,0001		>20'<30' >30'<60'			>60'<2h >2h<3h
		0,00003					

Tab. 15 (Fortsetzung)

Wirk- stoffe OM	mol	OA %	Bac. subtilis		Bac. anthracis		E. Coli
			veg.	Sporen	veg.	Sporen	
FeCl ₃	0,004	D 0,03 0,008 C 0,003 0,0008 D 0,25 0,06 C 0,0003 0,00003 T 0,125			>3h<5h >5h >60'<2h >3h<5h		
	0,002						>60'<2h >30'<60'
	0,0009			>60'<2h >2h<5h			>2h<5h
	0,0002						

Tab. 16

Kombinierte Bakterizidieversuche mit Oxydationsmitteln und Oberflächenaktiva

(Medium: Bouillon, 37°C)

Wirk- stoffe	mol	OA %	Bac. subtilus			Bac. anthracis			E. Coli
			veg.	Sporen	Sporen	veg.	Sporen	Sporen	
KMnO ₄	0,05	T 0,5							
		D 0,5							
		C 0,05							
		C 0,0008							
		T 0,25							
	0,0125	C 0,03							
		D 0,5							
		C 0,03							
		C 0,004							
		C 0,004							
KClO ₃	0,004	C 0,004							
		D 0,06							
		C 0,008							
		C 0,0005							
		T 0,5							
	0,025	D 0,5							
		C 0,05							
		C 0,015							
		C 0,003							
		C 0,015							
	0,013	C 0,0002							
		C 0,0005							
		D 0,13							
		C 0,03							
	0,006	C 0,0005							
		D 0,13							
		C 0,03							
		C 0,0005							
		D 0,13							
		C 0,03							

>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>5' <10'	>5' <10'	>2h <3h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>5' <10'	>5' <10'	>2h <3h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>5' <10'	>5' <10'	>2h <3h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>5' <10'	>5' <10'	>2h <3h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h
>10' <20'	>10' <20'	>5h	>60' <2h	>60' <2h	>60' <2h	>30' <60'	>2h <3h

Tab. 16 (Fortsetzung)

Wirk- stoffe		Bac. subtilis	Bac. anthracis	E. Coli
OM	mol	veg.	Sporen veg.	Sporen
OA %				
H ₂ O ₂	0,5	D 0,5	>10' <20'	>2h <3h
		C 0,05	>1' <5'	
		C 0,025	>10' <20'	
		T 0,5	>60' <2h	
		D 0,5	>1' <5'	
	0,25	D 0,5	>5' <10'	
		C 0,05	>10' <20'	
		T 0,5	>20' <30'	
		D 0,008	>2h <3h	
		T 0,04	>20' <30'	
FeCl ₃	0,004	D 0,03	>5' <10'	>2h <3h
		T 0,25	>5' <10'	
		C 0,003	>60' <2h	
		C 0,005	>60' <2h	
		C 0,0025	>60' <2h	
	0,0025	C 0,025	>2h <3h	>2h <3h
		C 0,0008	>2h <3h	
		T 0,5	>5h	
		C 0,05	>5' <10'	
		D 0,05	>5h	
0,125	C 0,05	>1' <5'	>2h <3h	
	C 0,015	>5' <10'		
	C 0,008	>10' <20'		
	T 0,5	>1' <5'		
	D 0,15	>5' <10'		
0,008	0,004	C 0,012	>10' <20'	>3h <5h
		C 0,008	>1' <5'	
		C 0,001	>5' <10'	
		C 0,0003	>30' <60'	
		D 0,03	>2h <3h	
	0,008	C 0,008	>3h <5h	>2h <3h
		C 0,001	>2h <3h	
		C 0,0003	>2h <3h	
		D 0,03	>2h <3h	
		C 0,008	>2h <3h	

zur Erreichung dieser Resultate recht hoch sind.

Bei Verwendung von FeCl_3 zusammen mit Oberflächenaktiva werden Milzbrand- und Heubazillensporen nur in Gegenwart von CPC in brauchbar kurzen Zeiten abgetötet, wobei auch hier das Ergebnis bei 37°C etwas besser ist als bei Zimmertemperatur.

In Tab. 17 und 18 sind die Ergebnisse der Bakterizidversuche wiedergegeben, bei denen das Medium Serum als Ballast enthielt.

Die Kombinationen von KMnO_4 und Oberflächenaktiva können bei Sporen schlechter angesehen werden als in Tab. 15 und 16. In den interessierenden Konzentrationsbereichen wurde keine brauchbare Abtötungszeit festgestellt. Dasselbe gilt für die Kombination von KClO_3 mit Oberflächenaktiva. Bei diesen beiden Versuchsserien hat die Erhöhung der Versuchstemperatur auf 37°C keine Verbesserung des Ergebnisses zur Folge.

Kombinationen von H_2O_2 mit Oberflächenaktiva ergaben mit CPC ein recht gutes Resultat bei Verwendung von Milzbrandsporen, während Heubazillensporen bei denselben Konzentrationen viel widerstandsfähiger waren. Durch Erhöhung der Versuchstemperaturen auf 37°C wurden bei Milzbrandsporen Zeiten zwischen 1' und 5' und bei Heubazillensporen solche zwischen 1h und 3h gemessen. Diese Werte sind vergleichbar mit denen der Versuche ohne Serumzusatz.

Die Kombinationen von FeCl_3 und Oberflächenaktiva ergaben bei Zimmertemperatur und Milzbrandsporen als Testkeime Werte von 1 - 2h in Gegenwart von 0,05%iger CPC. Bei 37°C wurde dieser Wert auf $1/2$ - 1h verbessert. Heubazillensporen erwiesen sich auch hier widerstandsfähiger.

Tab. 17

Verkomplizierte oxydierende Effekt von Oxidationsmitteln und Oberflächenaktive
(Medium: Serumbouillon, Zimmertemperatur)

Wirk- stoffe OH	K no4	mol	OA %	Bac. subtilis		Bac. anthracis		B. Coll
				veg.	Sporen	veg.	Sporen	
K ₂ Cr ₂ O ₇	0,025	0,006	T 0,5		>5h	>5h	>5h	
			D 0,5		>5h	>60' < 2h	>5h	
			C 0,125			>3h < 5h		
			C 0,025		>5h		>5h	
			C 0,0125			>60' < 2h		
			C 0,004			>3h < 5h		
			C 0,013					>60' < 2h
			D 0,025	>20' < 30'				
			C 0,06	>3h				
			C 0,002	>3h < 5h				
KClO ₃	0,025	0,006	C 0,0003	>3h				
			T 0,5	>5h	>5h	>5h	>5h	
			D 0,25	>5h				
			C 0,025		>5h			>5h
			C 0,006					>5h
			C 0,001	>5h < 5h				
			T 0,5		>2h < 3h		>10' < 20'	
			C 0,25		>3h < 5h		>20' < 30'	
			D 0,5		>2h < 3h			
			C 0,25		>2h < 3h		>30' < 60'	
H ₂ O ₂	0,13	0,06	C 0,025		>2h < 3h		>20' < 30'	
			C 0,013		>5h			
			T 0,5					>60' < 2h
			C 0,5			>30' < 60'		>3h < 5h
			C 0,13					>3h < 5h

Tab. 17 (Fortsetzung)

Wirk- stoffe	mol	OA %	Bac.subtilis veg.	Sporen	Bac.anthraxis veg.	Sporen	E.Coli
H ₂ O ₂	0,06	D 0,5 0,13 0,03	>2h<3h >3h<5h		>10'<20' >20'<30' >5'<10' >20'<30'		>3h<5h >3h<5h
	0,03	C 0,013					>30'<60'
	0,015	C 0,013					>3h<5h
FeCl ₃	0,008 0,13	C 0,003 C 0,001 T 0,5 D 0,5 C 0,05 C 0,025	>3h<5h	>5h >5h >2h<3h >3h<5h		>2h<3h >3h<5h >60'<2h	>20'<30' >60'<2h
	0,06 0,03	T 0,5 D 0,25 C 0,013			>10'<20' >1'<5' >1'<5' >10'<20' >30'<60'		
	0,015	T 0,5 D 0,13 D 0,5 0,13 0,3	>60'<2h >3h<5h >30'<60' >2h<3h >30'<60'				>3h<5h >3h<5h >5h >3h<5h
	0,008	C 0,001 C 0,003 C 0,013 C 0,003	>2h<3h				>2h<3h >5h

Tab. 18

Der kombinierte bakterizide Effekt von Oxydationsmitteln und Oberflächenaktiva
(Medium: Serumbouillon, 37°C)

Wirk- stoffe	OM	mol	OA %	Bac. subtilis		Bac. anthracis		E. coli
				veg.	Sporen	veg.	Sporen	
KMnO ₄	0,25		T 0,5		>5h	>5h	>5h	>3h<5h
			D 0,5		>5h	>5h	>5h	
			C 0,13		>5h	>2h<3h	>5h	
			C 0,025		>5h			
			C 0,013			>30'<60'		
			C 0,004			>1h<3h		
KClO ₃	0,025		C 0,013					>20'<30'
			D 0,25	>5'<10'				
			C 0,06	>5h				
			C 0,002	>1h<3h				
			C 0,0003	>5h				
			T 0,5	>5h				
H ₂ O ₂	0,13		D 0,25		>5h	>5h	>5h	>5h
			C 0,025		>5h	>5h	>5h	>30'<60'
			C 0,001					
			T 0,5	>60'<2h				
			D 0,25		>60'<2h			
			C 0,025		>60'<2h			
	0,13		C 0,013		>2h<3h			
			T 0,5					
			D 0,13					
			C 0,025					
			C 0,013					
			T 0,5					
	0,06		D 0,25					
			C 0,013					
			T 0,5					
			D 0,13					
			C 0,025					
			T 0,5					

Tab. 18 (Fortsetzung)

Wirk- stoffe	OM	mol	OA %	Bac. subtilis			Bac. anthracis			E. Coli
				veg.	Sporen	veg.	Sporen	veg.	Sporen	
H ₂ O ₂	0,03	0,015	C 0,013							>5' <10'
			0,003							>30' <60'
			0,013							>10' <20'
			0,003							>30' <60'
FeCl ₃	0,008	0,13	0,001							
			T 0,5	>60' <2h	>5h					
			D 0,5		>5h					
			C 0,05		>60' <2h					
	0,06	0,015	0,0125		>2h <3h					
			T 0,5			>1' <5'				
			C 0,5	>20' <30'						>2h <3h
			D 0,13							>3h <5h
	0,008	0,03	0,13							
			0,03	>10' <20'						>3h <5h
			C 0,001	>30' <60'						>2h <3h
			0,0003	>10' <20'						>30' <60'
	0,03	0,25	C 0,013	>60' <2h						>3h <5h
			D 0,003							
			C 0,013							
			0,003							
	0,03	0,015	D 0,25							
			C 0,013							
			0,003							
			0,003							

8. Der Einfluss von Wechselströmen auf die Zellkonzentration von Milzbrandbazillen bzw. -sporen

a) Versuchsanordnung im einzelnen

Da E.Coli-Bakterien gegen Milzbrandbazillen (vegetative Formen) antagonistisch wirken und elektrische Ströme Wachstums- und Stoffwechselleistung von Mikroorganismen beeinflussen, wurde versucht, unter Verwendung verschiedener Nährmedien Mischpopulationen von Coli-Bakterien mit Milzbrandbazillen, zu ungunsten letzterer, zu beeinflussen. Dabei wurden auch die Versuchstemperatur sowie die Stromstärke berücksichtigt.

Als Versuchsgefäße dienten Rundkolben von 110 ml Fassungsvermögen mit drei Stützen, wobei die beiden seitlichen zum Einführen der Elektroden dienten und die mittlere mit Watte verschlossen zur Entnahme der Proben (s. Abb. 2).



Als Elektroden wurden verwandt runde Kohlestäbchen von 0,5 cm Querschnitt. Es wurde stets dasselbe Volumen des Mediums gleich 100 ml genommen. Die Eintauchtiefe der Elektroden betrug 4 cm und der Abstand der Elektrodenenden 2 cm. Das Medium wurde prinzipiell in folgender Weise zusammengesetzt:

90 ml Medium

5 ml Milzbrandsuspension

5 ml Coli-Suspension ($1:5 \cdot 10^5$).

Die Keimsuspensionen wurden stets mit demselben Medium hergestellt, das auch als Testmedium diente. Eine Milzbrandsporensuspension wurde in der Weise hergestellt, in dem eine 8 Tage alte Schrägagarkultur mit 6 ml abgeschwemmt und davon 5 ml entnommen wurden. Zur Herstellung einer Suspension vegetativer Formen wurde eine 18 Stunden alte Schräg-

agrarkultur benutzt. Die Colisuspension wurde durch Verdünnung einer 18 Stunden alten Bouillonkultur im Verhältnis $1:5 \cdot 10^5$ gewonnen.

Nach der Probeentnahme wurden nach adäquater Vorverdünnung je nur 0,3 ml auf drei Agar bzw. Blutagarplatten ausgestrichen. In der Tabelle ist die mittlere Koloniezahl 0,3 ml Ausgangskultur, also unter Berücksichtigung der Vorverdünnung angegeben. Erwähnt sei jetzt schon, dass durch diese erforderliche Vorverdünnung sehr geringe Keimkonzentrationen unter Umständen nicht erfasst wurden, so dass die Versuche nie den Schluss zulassen, ob z.B. alle Milzbrandkeime abgetötet sind.

Andere Möglichkeiten, dies festzustellen, gibt es praktisch nicht, da bei einer Mischkultur von Colibakterien und Milzbrandbazillen, wie K l i e w e zeigte, auch der Tierversuch versagt, wenn die erstgenannte Keimart reich vertreten ist. Auch sind Differential- oder Selektiv-Nährböden für Milzbrandbazillen nicht bekannt. Die bei Abwasserversuchen verwandte Erhitzung von Suspensionen solcher Mischpopulationen ist in unserem Fall nicht anwendbar, da bei unseren Versuchen Wachstumsmedien und auch sonstige Versuchsbedingungen vorliegen, bei denen Milzbrandsporen auskeimen, so dass mit dem Vorliegen von vegetativen und damit thermosensiblen Formen zu rechnen ist. Diese Versuche geben also nur einen Hinweis, ob durch die Abnahme der Überzahl eingesäter Milzbrandbazillen durch deren Nichtmehrnachweisbarkeit deren völliges Verschwinden wahrscheinlich ist.

b) Ergebnisse

Die in Tab. 19 wiedergegebenen Versuche wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt und zwar mit

Tab. 19

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei autoklaviertem Rheinwasser = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 8 V,
bei 1 : 4 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 2 V.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10^{-8} .

Versuchstemperatur = Zimmertemperatur = 21°C .

Koloniezahl $\times 10^8/0,3 \text{ ml}$.

Versuchsdauer i. Std.	Rheinwasser (autoklaviert)					
	mit Strom		ohne Strom=K		Bouillon	
	MB	Coli	MB	Coli	mit Strom MB	ohne Strom=K Coli
0	277	1	254	$\emptyset$	275	$\emptyset$
5	523	150	600	131	5	410
22		nicht auszählbar	nicht auszählbar		nicht auszählbar	nicht auszählbar
48		nicht auszählbar	nicht auszählbar		nicht auszählbar	nicht auszählbar

1:4 verdünnter Bouillon und mit sterilem Rheinwasser (das Rheinwasser wurde durch Erhitzen in Autoklaven auf 120°C sterilisiert). Die Stromstärke betrug 20 mAmp bei einer Spannung in Rheinwasser von 8 Volt und in Bouillon von 2 Volt.

Aus Tab. 19 ist zu entnehmen, dass unter diesen Versuchsbedingungen bei beiden Nährmedien mit Wechselstrom keine ungünstige Beeinflussung der Milzbrandbazillen beim Vergleich mit der Kontrolle sich ergibt. Zu bemerken ist, dass bei den 22-, 48- und 5-Stunden-Werten der Ausdruck "nicht auszählbar" eingesetzt wurde, weil bei dieser Versuchsmenge einheitliche Vorverdünnung von 10^{-8} gewählt wurde.

Ein ähnlicher Versuch ist in Tab. 20 wiedergegeben, bei dem eine Mischung von Rheinschlamm und Rheinwasser (beide steril) und Milzbrandsporen benutzt wurde. Mit zunehmender Kulturdauer wurden im Gegensatz zu den in Tab. 19 wiedergegebenen Versuchen höhere Vorverdünnungen gewählt. Untersucht man die Keimrelationen im oberen Drittel der Versuchsflüssigkeit, so gewinnt man den Eindruck, dass bei längerer Bebrütungszeit die Milzbrandsporenkonzentration in Gegenwart von Strom stärker abnimmt als ohne Strombehandlung. Eine Beziehung zur Colikonzentration ist nicht ersichtlich. Ähnliche Verhältnisse wurden bei einer Entnahme im unteren Drittel des Versuchsansatzes beobachtet. Trotz dieser deutlichen Keimzahlabnahme sind aber immer noch zahlreiche Milzbrandbazillen vorhanden.

In Tab. 21 sind Versuche wiedergegeben, bei denen Milzbrandbazillen (vegetative Formen) und vegetative Subtilisbazillen in Mischkulturen verwandt wurden. Die sonstige Versuchsanordnung entsprach der in Tab. 19 wiedergegebenen Serie. Zweck dieser Untersuchung war festzustellen, ob die häufig antago-

Tab. 20

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Kiliizbrendsporen unter Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung: Steriler Rheinschlamm (50 cm³) } 50 Hz, 20 mAmp, 7 V.
 Stromversuche: +45 cm³ Rheinwasser
 Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10⁻⁸.
 Versuchstemperatur = 21°C.
 Koloniezahl .108/0,3 ml.

Versuchs- dauer i.Std.	Rheinschlamm			Rheinschlamm (ohne Strom)					
	Entnahme oben		Entnahme unten	Entnahme oben		Entnahme unten		Coli	Ø
	MB	Coli		Coli	MB	Coli	MB		
0	240	Ø	245	Ø	300	Ø	290	Ø	
19	496	32	384	136	1160	162	536	312	
24	360	112	520	320	424	40	728	224	
42	96	900	96	720	200	740	290	172	
64	36	1040	20	1000	296	2700	280	1200	
84	16	1164	20	1200	76	2240	90	1700	

Tab. 21

Das antagonistische Verhalten von Bac.subtilis und Bac.anthraxis
unter Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei sterilem Rheinwasser = Wechselstrom 50 Hz, 20 mamp, 11 V,
 bei autoklaviertem Rheinwasser
 mit Na-Konzentration von 0,1% = Wechselstrom 50 Hz, 20 mamp, 3 V.
 Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10^{-8} .
 Versuchstemperatur = 21°C.

Ausstrich auf Blutagar, da apathogene Sporenbildner Blutagar hämolysieren.
 Koloniezahl $\cdot 10^8/0,3$ ml.

Versuch- dauer i.Std.	Rheinwasser (steril)			Rheinwasser mit Na-Konz. 0,1%		
	mit Strom MB	ohne Strom sub.	ohne Strom MB	mit Strom sub.	ohne Strom MB	ohne Strom sub.
0	210	Ø	300	Ø	880	600
20	122	3	50	Ø	112	42
48	7	4	22	4	180	160
64	185	2	70	2	100	85

nistisch wirkenden Heubazillen, die auch in Abwässern regelmässig gefunden werden, unter Stromeinfluss die Entwicklung von Milzbrandbazillen in nennenswerter Weise beeinflussen.

Aus Tab. 21 ist zu entnehmen, dass sowohl bei Verwendung von autoklaviertem Rheinwasser als auch mit einem Zusatz 0,1%igem Kochsalz die Heubazillen sich nur anfänglich zögernd entwickeln. Die Zahl der Milzbrandbazillen nimmt auch nur zu Anfang deutlich ab, während die späteren Zeitproben keine wesentliche Veränderung mehr aufweisen. Dieses Ergebnis ist bei Versuch und Kontrolle etwa gleich. Danach kann angenommen werden, dass bei dieser Anordnung von Mischkulturen die Wechselstrombehandlung unwirksam ist, und dass auch ohne Strombehandlung ein nennenswertes antagonistisches Verhalten von Subtilisbazillen auf Milzbrandbazillen bei Verwendung dieser Medien nicht auftritt.

In Tab. 22 wurde als Medium autoklaviertes Rheinwasser, Aqua dest., Bouillon 1:4 und 1:100 mit Aqua dest. verdünnt, ferner wurden die Sporenformen von Milzbrandbazillen als Testkeime neben Colibakterien verwandt.

Aus Tab. 22 ist zu entnehmen, dass in sterilem Rheinwasser als Medium ohne Strombehandlung die Koloniezahl der Milzbrandbazillen im Wesentlichen gleich bleibt und nur nach 64 Stunden zugenommen hat. Unter Strombehandlung tritt bis zu 48 Stunden im Hinblick auf die Streuung keine wesentliche Zunahme der Milzbrandzahlen ein. Die Colikolonien sind sehr niedrig. Bis zur 19. Versuchsstunde konnten keine Colibakterien ermittelt werden, was in Hinsicht auf die geringe Einsaat und die notwendige Vorverdünnung nicht besagt, dass keine Colikolonien vorhanden waren.

Tab. 22

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Milzbrandsporen unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:
Stromversuche:

Bei autoklaviertem Rheinwasser = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 5 V,
bei Aqua dest. = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 24,5 V,
bei 1 : 4 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 0,1 V,
bei 1 : 100 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 15 V.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10^{-8} .

Versuchstemperatur = 37°C.

Koloniezahl $\cdot 10^8/0,3$ ml.

Versuchs- dauer i. Std.	Rheinwasser (autoklaviert)			Aqua dest.			Bouillon (1:4)			Bouillon (1:100)		
	mit Strom ohne			mit Strom ohne			mit Strom ohne			mit Strom ohne		
	MB	Coli	ohne Strom	MB	Coli	ohne Strom	MB	Coli	ohne Strom	MB	Coli	ohne Strom
0	124	Ø 250	Ø	111	Ø 135	Ø	77	Ø 145	Ø	443	Ø 512	Ø
19	75	Ø 95	1	585	Ø 69	2	53	546 18	313	540	172 840	280
48	288	14 269	226	431	1 336	208	96	2400	nicht aus- zählbar	6670	4120 3000	9000
64	30	407830	760	1520	Ø 6440	1480	nicht aus- zählbar	nicht aus- zählbar	nicht aus- zählbar	75 10 ³	26 10 ³	42 10 ³
												46 10 ³

Verwendet man dagegen Aqua dest. als Versuchsmedium, dann sind über die ganze Versuchszeit im Stromversuch praktisch keine Colikolonien nachweisbar, während die Milzbrandbazillen sehr zahlreich sind. Ohne Strombehandlung vermehren sich die Colibakterien deutlich, ohne jedoch die Zahl der Milzbrandkolonien zu beeinträchtigen. Danach kann angenommen werden, dass in diesem Medium der Stromeffekt für Colibakterien ungünstiger ist als für Milzbrandbazillen.

Bei Verwendung von 1:4 verdünnter Bouillon als Medium ist bis zur 19. Stunde der Versuchsdauer durch die Strombehandlung gegenüber der Kontrolle keine Reduktion der Milzbrandbazillen nachweisbar. Nach 48 Stunden ist die Zahl der Milzbrandbazillen bedeutend kleiner als bei der Kontrolle ohne Strombehandlung. Bei der 64-stündigen Versuchsdauer lassen sich keine genauen Angaben machen, da die Vorverdünnung nicht ausreichte.

Bei Verwendung von 1:100 mit Aqua dest. verdünnter Bouillon sind keine wesentlichen Unterschiede der Milzbrandzahlen zwischen Versuch und Kontrolle festzustellen, was dem Versuch mit Aqua dest. entspricht, mit dem Unterschied, dass die Keimzahlen von Coli- und Milzbrandbazillen einzeln gesehen wesentlich grösser sind. Dies könnte dafür sprechen, dass in einem solchen Medium eine Vermehrung der Keime eintritt, ohne das sonst übliche antagonistische Verhalten.

In Tab. 23 sind die Versuche wiedergegeben, die denen in Tab. 19 gleichen unter Hinzufügung eines Versuches mit Aqua dest. Es handelt sich um Versuche mit sterilem Rheinwasser, Aqua dest., 1:4 verdünnter Bouillon und Mischpopulation von E.Coli und vegetativen Milzbrandsporen.

Tab. 23

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Milzbrendbazillen (veg.)
unter Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche: Bei autoklaviertem Rheinwasser = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 5,1 V,
 bei Aqua dest. = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 15,5 V,
 bei 1 : 4 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 0,9 V.
 Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10^{-8} .
 Versuchstemperatur = 37°C .
 Koloniezahl $\cdot 10^8/0,3 \text{ ml}$.

Versuchs- dauer i. Std.	Rheinwasser (autoklaviert)			Aqua dest.			Bouillon (1 : 4)		
	mit Strom		ohne Strom	mit Strom		ohne Strom	mit Strom		ohne Strom
	MB	Coli	MB	Coli	MB	Coli	MB	Coli	MB
0	344	Ø	55	250	Ø	143	Ø	126	Ø
19	180	26	180	360	30	116	Ø	96	85
48	280	24	520	340	35	340	251	80	75
								nicht aus-	nicht aus-
								zähl-	zähl-
								bar	bar
64	8400	450	5900	7560	160	1280	6160	6000	5000
								nicht aus-	nicht aus-
								zähl-	zähl-
								bar	bar

Aus Tab. 23 ist zu entnehmen, dass bei Verwendung von Rheinwasser als Medium die Colibakterien bei Strombehandlung ähnlich wie oben (Tab.22) gehemmt werden und dass vergleichbar zu den Ergebnissen in Tab. 19 Milzbrandbazillen nicht nennenswert beeinflusst wurden. Auch bei 1:4 mit Aqua dest. verdünnter Bouillon ergibt die Strombehandlung keinen wesentlichen Unterschied zwischen Versuch und Kontrolle. Dasselbe gilt für Aqua dest. als Medium.

In Tab. 24 wurde als Medium verschieden stark mit Aqua dest. verdünnte Bouillon und im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Versuchen eine Versuchstemperatur von 37°C (Brutraum) benutzt. Die Milzbrandbazillensuspension enthielt vornehmlich vegetative Formen.

Aus Tab. 24 ist zu entnehmen, dass die Strombehandlung im Gegensatz zur Kontrolle die Zahl der gewachsenen Milzbrandkolonien nicht beeinflusst, gleichgültig welche Bouillon gewählt wurde. Dies ist insofern auffallend, weil die Zahl der Colikolonien im Laufe der Versuchszeit wesentlich anstieg. Da diese Beobachtung auch bei den Kontrollen gemacht werden konnten, dürfte das Ausbleiben eines nennenswerten antagonistischen Effekts auf die Art des Mediums zurückzuführen sein.

Die in Tab. 25 wiedergegebene Versuchsserie entspricht der von Tab. 24, jedoch mit einer Versuchstemperatur von 18°C (Wasserbad).

Aus Tab. 25 ist zu entnehmen, dass prinzipiell gegenüber den Versuchen mit höherer Temperatur keine in beweisender Form andere Resultate auftraten. Eine Ausnahme stellt der Versuch mit 1:5 verdünnter Bouillon dar, bei dem die Milzbrandkolonien im Stromansatz offensichtlich kleiner sind als bei der Kontrolle.

Tab. 24

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei 1 : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 1,3 V,
 bei 1 : 10 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 2,4 V,
 bei 1 : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 4,7 V,
 bei 1 : 100 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 20 mAmp, 15 V.

Versuchstemperatur = 37°C.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10⁻⁸.

Koloniezahl .10⁸/0,3 ml.

Versuchs- dauer i.Std.	Bouillon(1:5)				Bouillon(1:10)				Bouillon(1:20)				Bouillon(1:100)			
	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB
0	192	Ø	185	16	320	16	250	4	300	Ø	304	Ø	173	Ø	184	Ø
24	180	2320	160	900	136	900	35	1060	200	392	220	296	450	240	240	245
48	480	25600	400	12500	400	12500	220	5600	1600	8000	2000	1900	2400	2500	450	4000
64	78·10 ²	320·10 ³	19·10 ²	176·10 ³	48·10 ²	176·10 ³	96·10 ²	160·10 ³	88·10 ²	72·10 ²	120·10 ²	68·10 ³	120·10 ²	320·10 ²	48·10 ³	44·10 ³

Tab. 25

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei autoklaviertem Rheinwasser	= Wechselstrom	50 Hz,	8 V,
bei l : 5 verdünnter Bouillon	= Wechselstrom	50 Hz,	2,5 V,
bei l : 20 verdünnter Bouillon	= Wechselstrom	50 Hz,	11 V,
bei l : 100 verdünnter Bouillon	= Wechselstrom	50 Hz,	10 V,

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10^{-8} .

Versuchstemperatur = 18°C.

Koloniezahl $\cdot 10^8/0,3 \text{ ml}$

Ver- suchs- dauer i. Std.	Rheinwasser (autoklaviert)				Bouillon (1:5)				Bouillon (1:20)				Bouillon (1:100)			
	mit MB	Strom Coli	ohne MB	Strom Coli	mit MB	Strom Coli	ohne MB	Strom Coli	mit MB	Strom Coli	ohne MB	Strom Coli	mit MB	Strom Coli	ohne MB	Strom Coli
0	90	Ø	126	Ø	96	Ø	29	Ø	144	Ø	168	Ø	68	Ø	53	Ø
20	370	1	450	5	60	120	40	Ø	95	46	45	21	130	2	560	40
48	1760	100	400	120	540	32000	nicht zählbar	Ø	40	32000	100	32000	800	3600	480	800
64	5200	2900	7200	640	520	nicht aus- zähl- bar	nicht aus- zählbar	Ø	280	nicht aus- zähl- bar	530	nicht aus- zähl- bar	3200	6000	720	3200

In Tab. 26 und 27 sind die Versuche bei 18⁰ und bei 25⁰C mit Stromstärken von 50 bzw. 12,5 mAmp zusammengestellt.

Aus Tab. 26 und 27 ist zu entnehmen, dass bei einer Stromstärke von 50 mAmp und 18⁰C in Bouillon (1:5 verdünnt) die Zahl von Milzbrandkolonien nicht wesentlich abnehmen im Verhältnis zur Kontrolle, dasselbe gilt für den Versuch mit 1:20 verdünnter Bouillon. Dieselben Versuche bei 25⁰C ergaben ebenfalls keine Reduktion von Milzbrandbazillen in 1:4 verdünnter Bouillon, wohl aber bei 1:20 verdünnter Bouillon nach einer Versuchszeit von 64 Stunden. Zu berücksichtigen ist allerdings bei der Angabe von 0 Milzbrandbazillen, dass dieser Wert lediglich nach der starken Vorverdünnung erzielt wurde, dass also nach einer geringeren Vorverdünnung (die aber wegen der hohen Colizahlen nicht anwendbar ist) durchaus noch Milzbrandbazillen nachgewiesen werden können.

Bei Verwendung einer Stromstärke von 12,5 mAmp ist bei beiden Medien und 25⁰C kein Stromeffekt im Hinblick auf die Zahl der Milzbrandkolonien, wohl aber bei 18⁰C und einer 1:5 verdünnten Bouillon. Dass bei einer niedrigeren Stromstärke dieser Effekt bei 18⁰C, bei der höheren Stromstärke bei 25⁰C vorhanden ist, ist schwer erklärlich. Allerdings handelt es sich bei den Versuchen um verschiedene Nährmedien (bei 50 mAmp und 25⁰C: 1:20 verdünnte Bouillon / bei 12,5 mAmp und 18⁰C: 1:5 verdünnte Bouillon).

In Tab. 28 wurden ähnliche Versuche mit 50 bzw. 12,5 mAmp bei 37⁰C durchgeführt.

Aus Tab. 28 ist zu entnehmen, dass bei der gewählten Versuchstemperatur und 50 mAmp nach der relativ langen Einwirkungszeit von 64 Stunden im Ver-

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei I : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50 mAmp, 14,5 V,
 bei I : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50 mAmp, 7 V,
 II bei I : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50 mAmp, 11,5 V,
 bei I : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50 mAmp, 4,5 V.

Versuchstemperatur bei I = 25°C,

Versuchstemperatur bei II = 18°C.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10⁻⁸.

Koloniezahl .10⁸/0,3 ml.

Ver- suchs- dauer i.Std.	Bouillon(1:20) 25°C			Bouillon(1:5) 25°C			Bouillon(1:20) 18°C			Bouillon(1:5) 18°C		
	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB
0	70	Ø	100	448	Ø	100	Ø	280	Ø	90	Ø	270
20	22	24	37	44	160	96	240	240	20	132	96	132
48	800	28000	1000	2480	16000	270	16000	2000	2400	140	300	132
64	0	136·10 ³	33·10 ³	65·10 ²	32·10 ³	3·10 ²	4·10 ⁵	9·10 ³	3·10 ⁴	32·10 ⁴	720	16000
										19·10 ²	23·10 ⁴	64·10 ²
												296·10 ³

Tab. 27

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei I : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 1,2 V,
 bei I : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 2 V,
 bei I : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 2,3 V,
 bei I : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 2,5 V.

Versuchstemperatur bei I = 18°C,
 Versuchstemperatur bei II = 25°C.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10⁻⁸.

Koloniezahl .10⁸/0,3 ml.

Ver- suchs- dauer i.Std.	Bouillon(1:5) 18°C			Bouillon(1:20) 18°C			Bouillon(1:5) 25°C			Bouillon(1:20) 25°C		
	mit Strom MB	ohne Strom Coli MB	Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	Coli MB
0	13	Ø	59	11	Ø	11	13	Ø	14	20	Ø	Ø
20	31	200	46	68	90	48	50	1200	60	24	108	44
48	120	20800	100	28000	8400	640	150	125000	fehlt	120	14000	86
64	0	nicht aus- zähl- bar	7·10 ³	336·10 ²	4·10 ³	256·10 ²	6·10 ³	8·10 ⁵	2·10 ³	24·10 ²	174·10 ³	140
												103
												63·10 ³

Tab. 28

Das antagonistische Verhalten von E.Coli und Bac.anthraxis unter

Einwirkung von Wechselstrom

Zur Versuchsanordnung:

Stromversuche:

Bei 1 : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50. mAmp, 7 V,
 bei 1 : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 50. mAmp, 14,5 V,
 bei 1 : 5 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 1,2 V,
 bei 1 : 20 verdünnter Bouillon = Wechselstrom 50 Hz, 12,5 mAmp, 2 V.

Versuchstemperatur = 37°C.

Verdünnung der Ansätze vor Ausstreichen auf Agar = 10⁻⁸.

Koloniezahl .10⁸/0,3 ml.

Ver- suchs- dauer i.Std.	Bouillon(1:5) 50 mAmp		Bouillon(1:20) 50 mAmp		Bouillon(1:5) 12,5 mAmp		Bouillon(1:20) 12,5 mAmp	
	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB	mit Strom Coli MB	ohne Strom Coli MB
0	94	Ø	190	Ø	120	Ø	140	Ø
20	184	80	480	680	360	312	1600	31
48	1200	8000	280	5600	1280	2560	160	400
64	0	19*10 ³	8*10 ²	14*10 ⁴	8*10 ²	5400	800	64
				0	6*10 ⁴	19*10 ⁴	2400	2400
				0	0	0	33600	600
							5*10 ⁴	27*10 ³
							15*10 ³	100
								64*10 ³

such nennenswert weniger Milzbrandkolonien nachweisbar waren als in der Kontrolle. Bei sonst gleichen Versuchsbedingungen konnte in einer 1:20 verdünnten Bouillon als Medium dieses Ergebnis nicht erzielt werden.

Bei Verwendung von 12,5 mAmp ergaben die Stromversuche gegenüber der Kontrolle keine Verringerung der Zahlen von Milzbrandkolonien.

Diskussion

Es wurde grundsätzlich untersucht, ob Möglichkeiten bestehen, Milzbrandbazillen bzw. -sporen in Flüssigkeiten abzutöten. Dabei wurde besonders an Abwasserbedingungen gedacht. Verglichen wurde dabei das Verhalten der Milzbrandsporen mit denen von *Bac. subtilis* und *E. Coli*.

Alle biologischen Versuche haben eine gewisse Fehlerbreite. Dies gilt besonders für die Bestimmung der Bakteriostase, der Bakterizidie und der sogenannten Lebendkeimzahlbestimmung. Gemeinhin wurden diese Fehlermöglichkeiten dadurch ausgeglichen, dass bei den antibakteriellen Wertigkeitsbestimmungen Korrelationen zu verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen aufgestellt wurden. Dadurch ist es möglich, einzelne Fehler im Rahmen einer Serie sofort zu erkennen. Dies gilt besonders für Wirkstoffkombinationen.

Eine besondere Schwierigkeit war bei den Lebendkeimzahlbestimmungen dann vorhanden, wenn es sich um Mischpopulationen handelte. Dies war dadurch bedingt, dass es ein brauchbares Selektivmedium für Milzbrandbazillen nicht gibt. Man war deswegen gezwungen, bei Mischpopulationen mit vergleichbar hohen Keimzahlen zu arbeiten. Da aber der in nährstoffreichen Medien allgemein bekannte *E. Coli*-Milzbrand-Antagonismus bei den hier verwandten Medien nicht oder nicht genügend zum Ausdruck kam, stellt die Schwierigkeit einer Isolierung von einzelnen Milzbrandbazillenzellen kein Problem dar.

Insgesamt wurden Möglichkeiten einer Abtötung von Milzbrandbazillen aufgedeckt, die an praktischer Anwendung aber einer besonderen Bearbeitung unter Bedingungen der Abwasserpraxis bedarf.

Zusammenfassung

- 1.) Die Untersuchung der wachstumshemmenden Wirkung von Oxydationsmitteln ergab, dass H_2O_2 gegen *E.Coli*, *Bac.anthraxis*, *Bac. subtilis* in etwa gleicher Weise wirksam ist. In der antibakteriellen Wirkung abnehmend folgen dann FeCl_3 (etwa $1/5$ des H_2O_2 Effektes), KMnO_4 (etwa $1/10$ des H_2O_2 Effektes) und zuletzt KClO_3 . Diese Vergleiche wurden nach den molaren Konzentrationen gezogen.
- 2.) Die Verwendung von Serumbouillon verschlechterte das Ergebnis in allen Fällen. Dies ist besonders ausgeprägt bei H_2O_2 . In diesem Fall muss zum Nachweis eines antibakteriellen Effektes im Verhältnis zu einfacher Bouillon als Medium etwa die 40fache Konzentration benutzt werden. Bei Verwendung von FeCl_3 ist etwa die doppelte Konzentration erforderlich.
- 3.)a Ein Vergleich des bakteriziden Effektes der untersuchten Substanzen ergab, dass bei Zimmertemperatur (21°Celsius) KMnO_4 in einer Konzentration von 0,1 Mol die vegetativen Formen der verwandten Bakterien in gleicher Zeit abtötet, aber die Sporen in ihrer Lebensfähigkeit bei einer Beobachtungszeit von 5 Stunden nicht beeinflusst. H_2O_2 dagegen tötet in einer Konzentration von 0,5 Mol die Sporen von *Bac.anthraxis* bei Zimmertemperatur ab, nicht aber die von *Bac. subtilis*. FeCl_3 in einer Konzentration von 0,5 Mol hat bei Zimmertemperatur nur bei den vegetativen Formen eine Wirkung, während KClO_3 auch gegen die vegetativen Formen einen bakteriziden Effekt besitzt. In Anwe-

senheit von Eiweiss wird im allgemeinen kaum ein antibakterieller Effekt erzielt.

- b) Führt man die Versuche bei 37°Celsius anstatt bei Zimmertemperatur durch, dann wird mit KMnO_4 das Ergebnis nicht besser. Dagegen vermag H_2O_2 in einer Konzentration von 0,5 Mol die Subtilissporen in Bouillon in einer Zeit zwischen 3 und 5 Stunden abzutöten und die Milzbrandsporen in Serum-bouillon in 20 Minuten, was beides bei Zimmertemperatur nicht gelang.

Auch bei FeCl_3 in einer Konzentration von 0,5 Mol hat einen bakteriziden Effekt, und zwar in kürzerer Zeit bei Milzbrandsporen als bei Subtilissporen. Besonders zu vermerken ist, dass bei Zimmertemperatur in Anwesenheit von Serum die beiden Sporenarten nicht abgetötet wurden, wohl aber bei der höheren Versuchstemperatur von 37°Celsius.

- 4.) Mit kapillaraktiven Substanzen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

- a) Tween 80 hemmt das Wachstum von Bac. subtilis und Bac.anthraxis bis zu einer Konzentration von 1 Vol.% nicht (Bouillon und Serumbouillon als Medien).
- b) Duponol hemmt E.Coli bis zu einer Konzentration von 1 Gew.% nicht, hemmt aber das Wachstum von Bac.subtilis und Bac.anthraxis bei einer Konzentration von etwa 0,02% in Bouillon. Durch Verwendung von Serumbouillon wird das Ergebnis verschlechtert.
- c) Cetylpyridiniumchlorid hat den besten Hemmeffekt. Die Sensibilität der Testkeime nimmt in der Reihenfolge E.Coli, Bac.anthraxis, Bac.subtilis zu. Die Anwesenheit von

Eiweiss (Serum) verschlechtert den antibakteriellen Effekt in allen drei Fällen.

- 5.) Die Bakterizidieversuche mit den genannten drei kapillaraktiven Substanzen ergaben ein vergleichbares Resultat (siehe Punkt 4).

Besonders ist lediglich zu erwähnen, dass Cetylpyridiniumchlorid auch Sporen von *Bac.subtilis* und *Bac.anthraxis* abzutöten vermag, schneller bei 37°Celsius als bei Zimmertemperatur.

- 6.) Die Versuche über die bakteriostatische Wirkung von verschiedenen Kombinationen der Oxydationsmittel mit denen der Oberflächenaktiva ergaben, dass bei Verwendung von *E.Coli* als Testkeim die Kombinationen von dem allein nicht wirksamen

- a) Tween 80 mit FeCl_3 einen besseren Effekt gibt als die entsprechende FeCl_3 Konzentration allein. Dies zeigt sich besonders bei Serumbouillon. Die anderen Kombinationen von Tween 80 mit Oxydationsmitteln hatten in Serumbouillon keinen oder fast keinen besseren antibakteriellen Effekt.
- b) Duponol hatte zusammen mit FeCl_3 im Serumbouillon, besonders aber in Bouillon als Kombination einen besseren Effekt. Bedeutungslos waren auch hier alle anderen Kombinationen mit Duponol.
- c) Am besten war eine Verbesserung der Wachstumshemmung der Bakterien durch Kombination von Cetylpyridiniumchlorid mit den verschiedenen Oxydationsmitteln zu beobachten, und zwar gleichgültig, ob Bouillon oder Serum als Medium verwandt wurde.
- d) Die vegetativen Formen von *Bac.subtilis* und *Bac.anthraxis* sprachen zum grossen Teil

besser auf die verschiedenen Kombinationen von Oxydationsmitteln und Oberflächenaktiva an.

- 7.) Untersucht wurden ferner der bakterizide Effekt verschiedener Kombinationen von Oxydationsmitteln und Oberflächenaktiva in verschiedenen Mengenverhältnissen bei verschiedenen Temperaturen in Bouillon und Serumbouillon als Milieu gegen E.Coli, Bac.subtilis, Bac.anthraxis und gegen die Sporen der beiden letztgenannten Formen. Im allgemeinen reichen bei den vegetativen Zellen kürzere Einwirkungszeiten aus. Ebenso verbessert eine Temperaturerhöhung das Resultat.

Als besonders günstig erwies sich die Abtötung von Sporen bei einer Kombination von Cetylpyridiniumchlorid und H_2O_2 .

- 8.) Untersucht wurde die für die Fragestellung wichtige Beeinflussung des antagonistischen Verhaltens von E.Coli und Milzbrandbazillen durch niedrige Wechselströme. Bei Verwendung verschiedener Medien für die Suspension ergab sich unter den experimentellen Bedingungen keine für die Praxis interessante Beeinflussung der Konzentration von Milzbrandbazillen.

L i t e r a t u r

Apostoli und Laquerriere

C.R. Acad. Sci., Paris CX : 918 (1890)

Beattie, J., Martin and Lewis, F.C.

J. Hyg. 24 : 123 (1925)

Bohdanowicz, Z.

Ges. Geb. Hyg. 27 : 745 (1952)

Braus, Fr. W.

Arch. Hyg. 132 : 132 (1955)

Devereaux, E.D.

Mich. St. Agric. Exp. Sta. Quart. Bull. 12 : 20
(1920)

Emslander, F.

Wschr. f. Brauerei 47 : 105,265 (1930)

Fermi, C.

Arch. Hyg. 13 : 206 (1891)

Finkelstein, R.J. and Anderson, A.K. Dairy Sc. 2 : 374

(1919)

Gelpi, A.J. and Devereaux, E.D.

J. Dairy Sci. 13 : 368 (1930)

Gillissen, G.

Zbl. Bakt. Abt. I Ref. 151 : 161 (1953)

Glassman HN.

Bact. Rev. 12 : 105 - 148 (1948)

Graf P.

("Maßnahmen zur Verhütung u. Bekämpfung v. Milzbrand"
Lederindustrie - Berufsgenossenschaft Mainz 1950)"

- Guarini, G. and Samarini
Elektrochem. 10 : 693 (1904)
- Gundel K, Kliewe, H
Zbl. Bakt. Abt. I : Orig. 124 : 519 (1932)
- Hailer, E.
Z. Hyg. 131 : 443 (1950)
ebenda 137 : 611 (1953)
- Hallerman, A. and Simola
cit. Rudy, H. : Pharmazie 4 : 393 (1949)
- Hallermann, A. : Wschr. f. Brauerei 47 : 279 (1930)
- Hausam, W. und Seele, H.
"Maßnahmen zur Verhütung und Bekämpfung von Milz-
brand" Lederindustrie Berufsgenossenschaft Mainz
195c"
- Heller R.
Oest. botan. Z. : 336 u. 358 (1897)
- Heicken K.,
Z. Hyg 135 : 307 (1952)
- Horsch, R.
Wschr. f. Brauerei 47 : 217 (1930)
- Jakob, G.
Wschr. f. Brauerei 47 : 285 (1930)
- Kinzel und Kuchler, L.F.
Prakt. Blätter, Bayr. Landesanstalt f. Pflanzen-
bau und - Schutz, cit. Schieblisch und Schulze
6/7
- Kleiber, M., Biochem. Z. 160 : 312 (1925)
- Klein, E., Hyg. Rdsch. 4 : 337 (1894)

Kliewe, H. und Neidl, G.

Arch. Hyg. 136 : 265 (1952)

Kühne, K.

Untersuchungen, über das Protoplasma und die
Kontraktibilität (1864)

Oppermann, G.

Hyg. Rdsch. 4 : 865 (1894)

Renard, A.

Ann. chim. et phys. 17 : 289 (1879)

Reuter, H.

cit. Stockhausen, F. und Koch, R.

Robison, F.W.

Ind. and Eng. chem. 15 : 514 (1923)

Sadoff, H.L., Halvorson, H.O., Finn, R.K.

Bact. Proc. 22 : A 11 (1955)

Schieblich, M. und Schulze, M.

Biochem. Z. 168 : 192 (1926)

Schiel, I.

Arch. klin. Med. 15 : 191 (1875)

Schrempp, W.

Wschr. f. Brauerei 48 : 179 (1931)

Schwarz, I.

cit. Stockhausen, F. und Koch, R.

Seele, H.

"Maßnahme zur Verhütung und Bekämpfung von Milz-
brand Lederindustrie Berufsgenossenschaft Mainz

1950"

Stockhausen, F, und Koch, R.

Wschr. f. Brauerei XLVIII : 403 und 419 (1931)

Thiele, H. und Wolf, K.

Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 25 : 650 (1899)

Thornton, W.M.

Proc. roy. Soc., Lond. 85 : 331 (1921)

Tracy, R. L. jr.

J. Frust. Prod. 10 : 11 (1931)

Webster, B.

Chem. Zbl. 1 : 1365 (1953)

Lebenslauf

Im März 1938 bin ich als 2. Tochter des praktischen Arztes Dr Carl Eichhorn und seiner Ehefrau Irene in Mannheim geboren. 1939 starb mein Vater. 1943 wurden wir in Frankenthal ausgebombt und verbrachten die Zeit bis Kriegsende im Elsaß. Nach dem Kriege besuchte ich bis 1948 die Volksschule in Frankenthal, anschliessend bis Ostern 1953 das Realgymnasium für Mädchen, von 1953 - 1956 das Knaben-Realgymnasium in Frankenthal, wo ich am 1.3.1956 das Abitur bestand. Im Mai 1956 begann ich mein Medizinstudium in Heidelberg, wo ich im Juli 1958 das Physikum bestand. Anschliessend heiratete ich. Ab November 1958 studierte ich an der Universität Mainz und legte an der Universitätsklinik die Praktika ab.

